



## Une approche multi-omique intégrée pour décrypter l'interaction entre le peuplier l'agent de la rouille du peuplier

Prénom, Nom du porteur : Sébastien Duplessis, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM) 1136

Partenaires Labex : Projet multi-équipes INRAE/UL au sein de l'UMR IAM (équipes *Réponse aux stress et régulation redox*, *Ecologie des champignons pathogènes forestiers* et *Ecogénomique des interactions*)

Action thématique concernée : WP1

---

### **Contexte** —

Les maladies de la rouille causées par les champignons de l'ordre des Pucciniales entraînent des dégâts conséquents chez de nombreuses plantes cultivées ou des arbres exploités en plantation comme le peuplier. Le pathosystème établi entre le peuplier et *Melampsora larici-populina* est un des modèles les plus avancés pour la compréhension des mécanismes d'interaction avec les Pucciniales, notamment par la disponibilité des génomes de l'hôte et du pathogène. Des études conduites ces dix dernières années ont permis de faire des progrès quant à notre compréhension du processus infectieux, toutefois les connaissances sur les mécanismes moléculaires mis en jeu nécessitent d'être complétées.

### **Objectifs** —

Afin de préciser les déterminants de l'infection chez le champignon et les mécanismes de résistance et de défense mis en œuvre par le peuplier lors de l'interaction avec le pathogène, nous proposons de mettre en place une approche multi-omique dans le cadre de l'infection d'un cultivar de peuplier par des isolats avirulent (processus de résistance) et virulent (succès de l'infection).

### **Démarche —**

Sur la base de cinétiques d'infection produites en laboratoire (collecte de 7 points entre inoculation de spores et apparition de symptômes à 7 jours), les ARNm et small-RNA seront extraits afin de réaliser une analyse transcriptomique par séquençage Illumina, les protéines seront extraites afin d'effectuer une analyse protéomique, et enfin, les métabolites seront extraits pour compléter par une approche de métabolomique.

### **Résultats marquants —**

- Les cinétiques d'interaction Peuplier-*M. larici-populina* ont été générées et ont déjà permis de réaliser i) une analyse protéomique et ii) une analyse métabolomique via des plateformes dédiées. Les résultats sont en cours d'exploitation (Cf. résultats préliminaires de protéomique ci-après).
- Les ARN sont en cours d'extraction pour une analyse transcriptomique dans le cadre du stage de Master 2 de Jean Mourot (M2 AETPF-IPE, UMR IAM). Des formations dédiées aux analyses transcriptomiques sous R ont été réalisées pour l'exploitation des résultats.
- L'analyse protéomiques par shotgun des 63 échantillons issus de cinétiques d'infection de disques foliaires de peuplier infectés par le champignon *M. larici-populina* [conditions compatible/maladie, incompatible/résistance et contrôle à 7 temps d'incubation après inoculation - 0, 6, 12, 24, 48, 96, 168 h x 3 réplicats) a été conduite sur la Plateforme d'Analyse Protéomique de Paris Sud-Ouest (PAPPSO, Gif-sur-Yvette, Mélisandre Blein-Nicolas & Marlène Daventure). Cette analyse a révélé 40 067 peptides correspondant à 4 454 protéines. Une analyse semi-quantitative par comptage de spectres (Spectral Count), approche dans laquelle les protéines sont quantifiées sur la base du nombre de spectres MS2 qui leur sont attribués après l'étape d'identification, a montré que parmi ces 4 454 protéines, 406 sont significatives à l'effet condition, 1 351 sont significatives à l'effet temps et enfin 367 le sont à l'effet temps et condition ( $P$ -value < 0,05). L'analyse quantitative basée sur les XIC (*eXtracted Ion Chromatograms*), approche consistant à résumer les intensités de peptides mesurées par le spectromètre de masse en abondances de protéines, a quant à elle révélé parmi ce même ensemble de protéines, 270 protéines significatives à l'effet condition, 1 401 à l'effet temps et enfin 117 à l'effet temps et condition ( $P$ -value < 0,05). Des analyses plus fines visant à agréger l'ensemble de ces données sont actuellement en cours.

### **Principales conclusions incluant des points-clés de discussion —**

Les données sont en cours d'acquisition à un rythme satisfaisant et suivant le plan expérimental initialement établi dans le projet. Nous notons déjà que les abondances fongiques restent limitées (dilution des molécules du pathogène dans les tissus de l'hôte), comme attendu.

### **Perspectives & valorisation —**

Les données de transcriptomique devraient être acquises autour de l'été 2024 et leur exploitation sera réalisée rapidement en été à l'aide d'un pipeline sous R dédié en préparation. Le dernier semestre 2024 sera consacré à l'établissement des corrélations entre les trois approches et à la valorisation des résultats sous la forme d'une publication.

### **Effet levier du projet —**

Les données de transcriptomique générées dans le projet Rustomics seront intégrées dans un projet ANR (dépôt en 2024) pour une analyse transcriptomique plus vaste à l'échelle du cycle de vie complet du champignon. Par ailleurs, les transcrits obtenus contribueront à améliorer l'annotation d'une version 3 du génome de *M. larici-populina* en cours d'obtention dans le cadre du projet Graine d'Artemis PRETE.