

Journées Jean Chevaugeon

VI^E RENCONTRES DE

PHYTOPATHOLOGIE / MYCOLOGIE

DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE PHYTOPATHOLOGIE

du 15 au 19 janvier 2006

**Centre Paul Langevin, CAES du CNRS
Aussois (Savoie) – France**



site web : <http://jjchevaugeon.cirad.fr/jjc2006/index.html>

Journées Jean Chevaugeon

Le comité d'organisation de cette édition des JJC s'est inscrit dans la continuité des précédents comités pour faire de ces journées un moment de dialogue et d'échanges enrichissants. Nous avons ainsi introduit quelques innovations en donnant, par exemple, une plus grande importance aux sessions posters. Nous vous souhaitons de fructueuses Rencontres 2006 !

Diana Fernandez, Jean Carlier et Didier Tharreau

Ces Rencontres ont pu être organisées grâce au soutien du CIRAD, de l'INRA, de l'IRD, de Bayer CropScience et de la Société Française de Phytopathologie.

LE COMITÉ D'ORGANISATION

Florence Barthod - CIRAD / Montpellier
Geneviève Bourelly - CIRAD / Montpellier
Jean Carlier - CIRAD / Montpellier
Diana Fernandez - IRD / Montpellier
Didier Tharreau - CIRAD / Montpellier

LE COMITÉ SCIENTIFIQUE

Jean Carlier - CIRAD / Montpellier
Diana Fernandez - IRD / Montpellier
Christian Lannou - INRA / Grignon
Marc-Henri Lebrun - CNRS/BAYER CROPSCIENCE / Lyon
Francis Martin - INRA / Nancy
Claire Neema - INA-PG / Paris
Ivan Sache - INRA / Grignon
Patrick Saindrenan - CNRS-UPS / Orsay
Didier Tharreau - CIRAD / Montpellier

PROGRAMME

DIMANCHE 15 JANVIER 2006 - APRES-MIDI

Accueil des participants

19h00 – Apéritif de Bienvenue

20h00 – DINER

LUNDI 16 JANVIER 2006 – MATIN

8h15 – 8h30 : Ouverture par le comité d'organisation et le Président de la S.F.P.

Session : TAXONOMIE, PHYLOGENIE ET GENETIQUE DES POPULATIONS

Animateurs : Jérôme Enjalbert (INRA / Grignon), Pascal Frey (INRA / Nancy)

Sous-session : Structure et inférences génétiques

- 8h30 – 9h00** **Jérôme Goudet (Dept. Ecology & Evolution, Lausanne / Suisse)**
Estimating demographic parameters from F-statistics
- 9h00 – 9h20** **Mélanie Roy (CNRS – UMR 5175 / Montpellier)**
Les champignons ectomycorrhiziens sont-ils généralistes ? Etude des populations de *Laccaria amethystina* en France
- 9h20 – 9h40** **Benoît Barrès (INRA / Nancy)**
Clonalité et diversité génétique hiérarchique de *Melampsora larici-populina*, agent de la rouille foliaire du peuplier
- 9h40 – 10h00** **Aurélien Tellier (Department of Disease and Stress Biology, Norwich / UK)**
Stabilisation of polymorphism in multi-locus gene-for-gene relationships
- 10h00 – 10h30** **PAUSE CAFE**
- 10h30 – 10h50** **Pierre Gladieux (INRA / Angers)**
A l'échelle européenne, les pommiers portant le gène de résistance *Vf* sélectionnent une sous population de *Venturia inaequalis*
- 10h50 – 11h10** **Natalia Sapoukhina (INRA / Angers)**
Spatial invasion by a virulent pathogen: successive breakdowns of different resistant hosts
- 11h10 – 11h30** **Lilian Gout (INRA – PMDV / Versailles)**
Mécanismes moléculaires impliqués dans l'évolution vers la virulence aux loci d'avirulence AvrLm1 et AvrLm6 dans des populations naturelles de *Leptosphaeria maculans*
- 11h30 – 11h50** **Cyril Dutech (INRA Pierroton / Cestas)**
Un graal moléculaire : recherche de marqueurs microsatellites chez les champignons
- 11h50 – 12h00** **Présentation de la Session Posters : TAXONOMIE, PHYLOGENIE ET GENETIQUE DES POPULATIONS**
- 12h00 – DEJEUNER**

LUNDI 16 JANVIER 2006 – APRES-MIDI

Session : TAXONOMIE, PHYLOGENIE ET GENETIQUE DES POPULATIONS (suite)

Animateurs : Jérôme Enjalbert (INRA / Grignon), Pascal Frey (INRA / Nancy)

16h00 – 18h00 PAUSE GOUTER et Session Posters : TAXONOMIE, PHYLOGENIE ET GENETIQUE DES POPULATIONS

Sous-session : Taxonomie, Phylogénie et Communautés

18h00 – 18h20 Renaud Ioos (INRA / Nancy)
Investigations moléculaires sur l'origine de l'hybride naturel *Phytophthora alni*, parasite émergent responsable du dépérissement de l'aulne en Europe

18h20 – 18h40 Pierre-Emmanuel Courty (INRA / Nancy)
Dynamique spatio-temporelle et fonctionnelle de la communauté ectomycorhizienne dans une chênaie-charmaie de Lorraine

Sous-session : Fitness et adaptation

18h40 – 19h10 Oliver Kaltz (CNRS-UMR 7103 / Paris)
Experimental coevolution in a microbial host-parasite system: direct and indirect costs of resistance

19h10 – 19h30 Mamadou Mboup (INRA-INAPG / Grignon)
Influence de l'adaptation à l'hôte et au climat dans la structuration des populations de rouille jaune (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*) en France

19h30 – 19h50 Josselin Montarry (UMR Bio3P / Rennes)
Sélection d'une population locale de *Phytophthora infestans* par des variétés de pomme de terre présentant différents niveaux de résistance

19h50 – 20h10 Henriette Goyeau (INRA / Grignon)
Clonalité et sélection par l'hôte chez *Puccinia triticina*

20h10 – 20h30 Bénédicte Parriaud (INRA / Grignon)
Agressivité de la rouille brune du blé (*Puccinia triticina*) et adaptation du parasite à son hôte

20h30 – DINER

21h30 – 22h30 Table ronde "Gestion des ressources biologiques fongiques"
Animateur : Daniel Bieysse (UMR BGPI / Montpellier)

MARDI 17 JANVIER 2006 - MATIN

Session : **EPIDEMIOLOGIE**

Animatrices : Lydia Bousset (INRA / Rennes), Henriette Goyeau (INRA / Grignon)

Sous-session : Répartition spatio-temporelle

- 8h30 – 9h00** **Mike Shaw (Université de Reading / UK)**
What should a good epidemiological question look like?
- 9h00 – 9h20** **Renaud Travadon (INRA – UMR Bio3P / Rennes)**
La pluie disperse efficacement les pycniospores de *Leptosphaeria maculans*, agent du phoma du colza
- 9h20 – 9h40** **Doug Bailey (INRA / Rennes)**
Inoculum and disease dynamics of soil borne plant pathogens in consecutive crops: An epidemiological analysis
- 9h40 – 10h00** **Marie Gosme (INRA / Rennes)**
Analyse de la structure spatiale d'épidémies naturelles de piétin-échaudage du blé causé par *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*
- 10h00 – 10h20** **Joseph Mouen Bedimo (IRAD / Cameroun)**
Répartition spatiale de l'antracnose des baies du caféier arabica (*Colletotrichum kahawae*) à l'échelle d'une parcelle au Cameroun
- 10h20 – 10h50** **PAUSE CAFE**

Sous-session : Dommages à l'hôte et contrôle des épidémies

- 10h50 – 11h10** **Christian Lannou (INRA / Grignon)**
Gestion régionale du risque épidémique : simulation de scénarios
- 11h10 – 11h30** **Corinne Robert (INRA / Grignon)**
Vers un modèle couplé « blé – septoriose » : notation des symptômes, quantification et hiérarchisation des dommages
- 11h30 – 11h50** **Lia Arraiano (Disease and Stress Biology Department, Norwich / UK)**
Genetic analysis of *Septoria tritici* blotch to improve resistance in European wheat breeding programmes
- 11h50 – 12h10** **Arnaud Dowkiw (INRA / Orléans)**
Remise en cause du potentiel de durabilité des résistances quantitatives à *Melampsora larici-populina* chez le peuplier hybride interaméricain
- 12h10 – 12h20** **Présentation des Sessions Posters : EPIDEMIOLOGIE et INTERACTIONS MOLECULAIRES**

12h30 – DEJEUNER

MARDI 17 JANVIER 2006 – APRES-MIDI

Session : INTERACTIONS MOLECULAIRES

Animateurs : Michel Chalot (Université de Nancy), Jean-Benoît Morel (INRA – UMR BGPI / Montpellier)

16h00 – 18h30 **PAUSE GOUTER et Sessions Posters : EPIDEMIOLOGIE ET INTERACTIONS MOLECULAIRES**

1 - Dialogue moléculaire

18h30 – 18h50 **Jérôme Collemare (CNRS – Bayer Cropscience / Lyon)**
A secondary metabolite is involved in recognition of the rice blast fungus

18h50 – 19h10 **Nadia Ponts (INRA / Bordeaux)**
Production *in vitro* de DON et de 15-ADON par *Fusarium graminearum* : cinétiques d'expression de gènes *Tri* en conditions de stress oxydatif

19h10 -19h30 **Aurélie Deveau (INRA / Nancy)**
Analyse des gènes impliqués dans les interactions entre le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* et une bactérie auxiliaire de la mycorhization *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8

19h30 – 20h00 **Karl-Heinz Kogel (Université de Giessen / Allemagne)**
Molecular aspects of endophyte and parasite infections of crop plants

20h00 – DINER et SOIREE DANSANTE

MERCREDI 18 JANVIER 2006 – MATIN

Session : *INTERACTIONS MOLECULAIRES* (suite)

Animateurs : Michel Chalot (Université de Nancy), Jean-Benoît Morel (INRA – UMR BGPI / Montpellier)

2 - Processus d'infection

- 9h00 – 9h20** **Claire Veneault-Fourrey (School of Biosciences - University of Exeter / UK)**
Mitotic control and autophagic-programmed cell death are required for appressorium-mediated penetration in *Magnaporthe grisea*
- 9h20 – 9h40** **Estelle Rémy (INRA / Versailles)**
Recherche de facteurs de pathogénie chez *Leptosphaeria maculans* : caractérisation d'un mutant de pénétration obtenu par mutagenèse insertionnelle aléatoire
- 9h40 – 10h00** **Karine Lambou (CNRS – Bayer Cropscience / Lyon)**
Analyse fonctionnelle de la voie impliquant la tétraspanine Pls1 nécessaire au fonctionnement de l'appressorium du champignon pathogène du riz *Magnaporthe grisea*

3 - Réponse des plantes

- 10h00 – 10h20** **Mathilde Allègre (INRA – CNRS / Dijon)**
Modification du fonctionnement stomatique de la vigne par *Plasmopara viticola*
- 10h20 – 10h50** **PAUSE CAFE**
- 10h50 – 11h10** **Béatrice Randoux (Laboratoire de Mycologie-Phytopathologie-Environnement, Université du Littoral Côte d'Opale / Calais)**
Activités élicitrice et protectrice de substances d'origine naturelle lors d'une interaction compatible blé/*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*
- 11h10 – 11h30** **Marie-Pierre Rivière (UMR - IPMSV / Sophia Antipolis)**
Résistance acquise avec l'âge chez les plantes vis-à-vis des oomycètes. Etude des fonctions extracellulaires chez *Nicotiana tabacum*
- 11h30 – 11h50** **Anne-Lise Varnier (Laboratoire de Stress, Défenses et Reproduction des Plantes - Université de Reims / Reims)**
Analyse fonctionnelle de deux gènes de vigne de fonction inconnue régulés lors de l'infection par *Botrytis cinerea*
- 11h50 – 12h00** **Présentation de la Session Posters : *INTERACTIONS MOLECULAIRES***

12h00 – DEJEUNER

MERCREDI 18 JANVIER 2006 – APRES-MIDI

Session : INTERACTIONS MOLECULAIRES (suite)

Animateurs : Michel Chalot (Université de Nancy), Jean-Benoît Morel (INRA – UMR BGPI / Montpellier)

16h00 – 18h00 **PAUSE GOUTER et Session Posters : INTERACTIONS MOLECULAIRES**

3 - Réponse des plantes (suite)

18h00 – 18h20 **Odile Faivre-Rampant (Cirad / Montpellier)**
Oryza sativa/Magnaporthe grisea: a model system for non-host interaction in cereals

18h20 – 18h40 **Cécile Rinaldi (INRA / Nancy)**
Analyse du transcriptome de feuilles de peuplier infectées par *Melampsora larici-populina*, l'agent de la rouille foliaire

4 - Métabolisme fongique

18h40 – 19h00 **Pascale Cotton (Université Claude Bernard / Lyon)**
Dialogue métabolique au cours de la pathogénèse nécrotrophe

19h00 – 19h20 **Julie Bailly (CNRS / Villeurbanne)**
Expression de gènes fongiques et végétaux de la voie d'assimilation de l'azote lors de la symbiose ectomycorhizienne

19h20 – 19h40 **Eva Lucic (INRA / Nancy)**
Tolérance au sodium du champignon ectomycorhizien *Hebeloma cylindrosporum* : rôle du gène SNA1

20h00 – DINER

21h30 – 22h30 **Table ronde "Génomomes fongiques"**
Animateur : Marc-Henri Lebrun (CNRS – Bayer Cropscience / Lyon)

JEUDI 19 JANVIER 2006 – MATIN

Session : GENOMIQUE DES CHAMPIGNONS

Animateur : Marc-Henri Lebrun (CNRS – Bayer Cropscience / Lyon), Francis Martin (INRA / Nancy)

- 8h30 – 8h55** **Fabienne Malagnac (IGM / Orsay)**
Le projet de séquence du génome de *Podospora anserina*
- 8h55 – 9h20** **Gilles Fisher (Institut Pasteur, Génolevure / Paris)**
Evolutionary remodeling of chromosomes maps in yeasts
- 9h20– 9h45** **Cécile Neuvéglise (INRA / Grignon)**
Génomique de la levure *Yarrowia* et évolution des transposons
- 9h45 – 10h10** **Pietro Spanu (Imperial College / UK)**
Microarray analysis of the transcriptome of *Blumeria graminis*, the obligate biotrophic pathogen of barley
- 10h10 – 10h25** **Francis Martin (INRA / Nancy)**
The genome sequence of the symbiotic fungus *Laccaria bicolor*
- 10h25 – 10h55** **PAUSE CAFE**
- 10h55 – 11h10** **Marc-Henri Lebrun (CNRS – Bayer Cropscience / Lyon)**
Génomique comparée des champignons et pathogénicité pour les plantes
- 11h10 – 11h25** **Isabelle Fudal (INRA / Versailles)**
Effet de la structure en isochores du génome de *Leptosphaeria maculans* sur la distribution des gènes impliqués dans l'interaction avec la plante hôte
- 11h25 – 11h40** **Joëlle Amselem (INRA / Versailles-Grignon)**
Annotation structurale et fonctionnelle du génome de *Botrytis cinerea*
- 11h40 – 12h00** **Clôture par le comité d'organisation et le Président de la S.F.P.**
- 12h00 – DEJEUNER**
- 14h00 – Départ des participants**

RESUMES DES PRESENTATIONS ORALES

LUNDI 16 JANVIER 2006 – MATIN

8h15 – 8h30 : Ouverture par le comité d'organisation et le Président de la S.F.P.

Session : TAXONOMIE, PHYLOGENIE ET GENETIQUE DES POPULATIONS

Animateurs : Jérôme Enjalbert (INRA / Grignon), Pascal Frey (INRA / Nancy)

Sous-session : Structure et inférences génétiques

- 8h30 – 9h00** **Jérôme Goudet (Dept. Ecology & Evolution, Lausanne / Suisse)**
Estimating demographic parameters from F-statistics
- 9h00 – 9h20** **Mélanie Roy (CNRS – UMR 5175 / Montpellier)**
Les champignons ectomycorrhiziens sont-ils généralistes ? Etude des populations de *Laccaria amethystina* en France
- 9h20 – 9h40** **Benoît Barrès (INRA / Nancy)**
Clonalité et diversité génétique hiérarchique de *Melampsora larici-populina*, agent de la rouille foliaire du peuplier
- 9h40 – 10h00** **Aurélien Tellier (Department of Disease and Stress Biology, Norwich / UK)**
Stabilisation of polymorphism in multi-locus gene-for-gene relationships
- 10h00 – 10h30** **PAUSE CAFE**
- 10h30 – 10h50** **Pierre Gladieux (INRA / Angers)**
A l'échelle européenne, les pommiers portant le gène de résistance *Vf* sélectionnent une sous population de *Venturia inaequalis*
- 10h50 – 11h10** **Natalia Sapoukhina (INRA / Angers)**
Spatial invasion by a virulent pathogen: successive breakdowns of different resistant hosts
- 11h10 – 11h30** **Lilian Gout (INRA – PMDV / Versailles)**
Mécanismes moléculaires impliqués dans l'évolution vers la virulence aux loci d'avirulence AvrLm1 et AvrLm6 dans des populations naturelles de *Leptosphaeria maculans*
- 11h30 – 11h50** **Cyril Dutech (INRA Pierroton / Cestas)**
Un graal moléculaire : recherche de marqueurs microsatellites chez les champignons
- 11h50 – 12h00** **Présentation de la Session Posters : TAXONOMIE, PHYLOGENIE ET GENETIQUE DES POPULATIONS**

Estimating demographic parameters from F-statistics

J. Goudet

Dept. Ecology & Evolution, Biophore, UNIL-Sorge, CH-1015, Lausanne - SUISSE

Inferring demographic parameters from genetic data is a long standing goal of population genetics. Most students of population genetics would say that genetic data allows estimation of "average" demographic parameters, and often as a product of two variables. Typical examples are the estimation of the parameter, proportional to the number of mutants entering each generation in the population, or the number of migrants N_m from F_{ST} . In addition to estimate "average" demographic parameters, these estimations are strongly dependent on the model from which they are derived, and on equilibrium conditions.

Here, I will show that if one divides a life cycle in its different elements, and obtain the transition in gene identities (simple function of gene diversities) between the different life stage, instantaneous estimation of migration and effective population size can be obtain, providing that samples from the different life stages have been genotyped. I will illustrate this method using data from the common shrew, *Crocidura russula*, where we have been able to estimate dispersal rates of males and females as well as effective population size. I will conclude by discussing possible developments of the method, which might be of interest to mycologists.

Les champignons ectomycorrhizien sont-ils généralistes ? Etude des populations de *Laccaria amethystina* en France

M. Roy (1), M.-P. Dubois (1), M. Proffit (1), E. Desmarais (2), M.-A. Selosse (1)

(1) Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive CNRS UMR 5175, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier

(2) Laboratoire de Génome et populations CNRS UPR 9060, Université Montpellier II CC 63, place E. Bataillon, 34095 Montpellier

Les champignons ectomycorrhiziens sont considérés comme généralistes : cette particularité permettrait par exemple (1) des flux de carbone entre des plantes différentes et (2) pourrait expliquer des mécanismes de favorisation dans les successions écologiques. Mais aucune étude ne démontre rigoureusement leur caractère généraliste. De plus, des champignons parasites forestiers phylogénétiquement proches, tel que *Heterobasidion annosum*, présentent une spécialisation cryptique selon l'espèce hôte. Les ectomycorrhiziens présentent-ils aussi une spéciation cryptique par rapport à l'hôte au niveau populationnel ou spécifique ? L'observation morphologique ou le séquençage de locus uniques (ITS par exemple) ne peuvent y répondre, mais l'étude des flux de gènes entre populations permet d'étudier une éventuelle spécialisation, voire une spéciation. Nous avons choisi un modèle basidiomycète apparemment généraliste, *Laccaria amethystina*, fréquent dans les forêts tempérées. A partir de 600 carpophores provenant de 11 populations issues de trois régions et de cinq hôtes différents, nous avons étudié le mode de reproduction de ce champignon et la structuration des populations par la distance ou par l'hôte. Nous avons utilisé trois marqueurs microsatellites, un marqueur de l'ADN ribosomal nucléaire, un marqueur mitochondrial et des marqueurs DALP (amplification directe du polymorphisme de longueur). Nous avons mis en évidence (1) un déficit en hétérozygote (Fis de 0,2 à 0,8), (2) une très faible différenciation par la distance à l'échelle de 500 km ($F_{st} = 0,069$) et (3) une absence de différenciation selon l'hôte ($F_{st} = 0,034$). Ceci suggère que ce champignon est partiellement autogame, qu'il disperse ses gènes à l'échelle de plusieurs centaines de kilomètres et surtout qu'il est vraiment généraliste. Ce résultat est discuté en termes évolutifs, pour comprendre ce qui sélectionne une stratégie généraliste chez les ectomycorrhiziens.

Clonalité et diversité génétique hiérarchique de *Melampsora larici-populina*, agent de la rouille foliaire du peuplier

B. Barrès (1), A. Andrieux (1), C. Dutech (2), J. Pinon (1), P. Frey (1)

(1) UMR IAM, Pathologie Forestière, INRA Nancy, 54280 Champenoux

(2) UMR BIOGECO, INRA Pierroton, 33612 Cestas

Les rouilles hétéroïques macrocycliques, telles que *Melampsora larici-populina*, agent de la rouille foliaire du peuplier, combinent des capacités de reproduction (sexuée et asexuée) associées à un mode de dissémination à grande échelle qui permettent un brassage génétique important et une large diffusion des génotypes adaptés. Ces caractéristiques en font des parasites efficaces et à forte capacité adaptative. On a ainsi vu des résistances qualitatives, sélectionnées pour la populiculture, contournées en quelques années seulement par *M. larici-populina*. Pour mesurer les différents paramètres de génétique des populations et ainsi mieux comprendre le déroulement d'une épidémie, deux éléments paraissent essentiels : il faut d'abord disposer de marqueurs génétiques polymorphes et neutres, et ensuite avoir une connaissance de la structuration de la diversité, afin de connaître l'échelle pertinente d'échantillonnage. C'est pourquoi nous avons développé 12 marqueurs microsatellites polymorphes et que des prélèvements ont été effectués selon une stratégie d'échantillonnage hiérarchisé emboîté sur 4 niveaux : la feuille, le rameau, l'arbre et le site. Trois sites ont été échantillonnés, deux en pépinière et un en ripisylve naturelle de *Populus nigra*, les trois possédant l'hôte écidien (mélèze) à proximité immédiate des peupliers. Un site en pépinière et le site naturel ont également été étudiés à deux dates, en début et en fin d'épidémie. La diversité globale mesurée est très importante : sur 647 individus génotypés, nous avons identifié 511 génotypes différents. De plus, seuls 8 génotypes sur 383 sont communs aux deux dates de prélèvement sur un même site. En moyenne, 70 % de la diversité génique s'explique au niveau de la feuille. La clonalité est beaucoup plus importante dans le compartiment naturel par rapport aux sites de pépinière, ce qui est dû à l'échantillonnage combiné à un effet de contamination en foyers et non à une diversité génétique moindre. Les effets des différents niveaux hiérarchiques ont été testés à l'aide du logiciel HIERFSTAT et ceux des niveaux « site » et « arbre » se sont révélés très significatifs. Les F_{ST} entre les populations sont moyens (entre 2,1 et 2,8 %), mais très significatifs. Les mêmes marqueurs microsatellites ont été utilisés afin de caractériser la clonalité et la diversité génétique le long d'un transect de la vallée de la Durance. Nous avons étudié les flux de gènes et la dérive génétique à partir d'une zone de sympatrie peuplier-mélèze, dont l'inoculum primaire est issu, vers l'aval de la vallée où l'épidémie annuelle se propage.

Stabilisation of polymorphism in multi-locus gene-for-gene relationships

A. Tellier and J. K. M. Brown

Department of Disease and Stress Biology, John Innes Centre, Norwich, NR4 7UH, UNITED KINGDOM

In the gene-for-gene (GFG) relationship, plant defences are only effective when a resistance gene interacts with a specific avirulence gene in the parasite. A major challenge for theoreticians has been to account for the maintenance of genetic polymorphism in this system, for which there is much evidence from field and molecular data. Constitutive costs of resistance and virulence are the most obvious explanations, but evidence for high values of such costs is limited.

We have developed a new theoretical framework to investigate gene-for-gene co-evolution. This predicts a general theoretical condition required to obtain stable polymorphism and enables links to be developed between theory and realistic situations in nature. Based on this theory, the maintenance of polymorphism in gene-for-gene interactions can be explained by taking into account such factors as spatially structured populations, year-to-year survival of a seed bank and the epidemiology of the pathogen. A key development of previous theory is that host plants may be attacked within one growing season by a succession of possibly different genotypes, virulent or avirulent, of a polycyclic parasite. Under this assumption and assuming high auto-infection rates, stable polymorphism can be achieved with realistically small constitutive costs of gene-for-gene resistance and virulence.

In a multi-locus GFG system, we show that in monocyclic diseases, polymorphism is only transient and is due to the recurrent appearance of new genotypes by mutations. In polycyclic diseases, however, stable polymorphism at both loci in host and parasites, i.e. maintenance of all possible genotypes, can be maintained with high auto-infection rates and moderate disease severity. Multi-locus gene-for-gene interactions therefore reduce further the costs of resistance and virulence needed for polymorphism to be stable. We also compare the co-evolutionary outcome in multi-locus GFG systems (e.g. *RPM1*, *RPS2* in *A. thaliana*) with another common recognition system in plants, a system in which several alleles at one locus in the plant recognise avirulence genes at different loci in the pathogen in an allele-for-gene (AFG) system (e.g. the *Mla* locus in Barley). We show that co-existence of these two recognition systems depends on the relative values of the two types of costs: adding a new resistance locus (multi-locus GFG) compared to adding a new resistance allele at the AFG locus. Polycyclic diseases and high auto-infection rates increase the likelihood of maintaining polymorphism and the co-existence of these two recognition systems in panmictic populations.

A l'échelle européenne, les pommiers portant le gène de résistance *Vf* sélectionnent une sous population de *Venturia inaequalis*

P. Gladieux (1), F. Guérin (2), B. Le Cam (1)

(1) INRA Angers, UMR Pathologie Végétale 52 rue Georges Morel- 49071 Beaucozè

(2) UMR Université-CIRAD 15, Avenue René Cassin 97715 Saint Denis - LA REUNION

La lutte génétique contre les maladies fongiques s'est beaucoup reposée sur une stratégie d'utilisation de résistance de type gène à gène. Cette stratégie est potentiellement très efficace et reste la plus simple à mettre en œuvre pour les sélectionneurs ; elle présente cependant une efficacité peu durable. De très larges espaces de cultivars présentant les mêmes traits de résistance monogénique sont exposés à des populations pathogènes capables de migrer et de s'adapter rapidement. Le cas du contournement de la résistance *Vf* au sein du pathosystème *Venturia inaequalis* / *Malus x domestica* illustre les limites de cette stratégie. Le caractère pérenne du pommier et l'utilisation quasi exclusive du gène de résistance *Vf* dans les programmes de création variétale a conduit à l'apparition de populations virulentes-*Vf* dans l'ensemble de l'Europe. Des travaux précédents menés en Normandie, nous ont permis de montrer qu'à l'échelle régionale, les populations isolées de cultivars *Vf* partageaient une origine commune, qu'elles étaient très fortement différenciées des populations présentes sur les cultivars dépourvus du gène *Vf* et que cette différenciation se maintenait dans le temps. Nous avons également montré que les populations virulentes-*Vf* étaient capables d'infecter d'autres cultivars non-*Vf* et donc potentiellement de se reproduire avec les populations présentes sur ces variétés que nous qualifions de « variétés-ponts ». Le résultat attendu de tels flux de gènes étant une fusion progressive entre les deux populations, il restait donc à déterminer si un tel scénario était valable à une échelle plus large. Nous avons donc étendu notre étude à l'échelle européenne ainsi qu'à un plus grand nombre de cultivars afin de déterminer (1) si les populations virulentes-*Vf* partagent une origine commune et (2) si les populations virulentes-*Vf* maintiennent leur différenciation avec les populations isolées d'hôtes non *Vf*. Dans cette perspective, nous avons isolé et génotypé pour 9 loci microsatellites, 900 souches représentant 63 variétés, 61 lieux géographiques, couvrant 15 années. Dans cette étude, nous montrons que les populations virulentes *Vf* échantillonnées sur toute l'Europe sont très apparentées entre elles indiquant l'existence d'une source de virulence commune. Les nombreux cas de contournement de résistance observés sont plus vraisemblablement dus à des événements de migration de souches virulentes qu'à des mutations indépendantes du gène d'avirulence. Cette information permet de discuter de la durabilité du gène *Vf* et indirectement sur la capacité même du champignon à s'adapter aux cultivars *Vf*. Ces données de génétique des populations sont maintenant prises en compte dans la réflexion pour la construction et le déploiement spatial de nouveaux génotypes combinant *Vf* à d'autres facteurs de résistance.

Spatial invasion by a virulent pathogen: successive breakdowns of different resistant hosts

N. Sapoukhina (1), P. Gladieux (1), H. L. Pedersen (2), B. Le Cam (1)

(1) UMR PaVé, Centre INRA d'Angers, Rue Georges Morel, BP 57, 49071 Beaucouzé Cedex

(2) Department of Horticulture, Research Centre Aarslev, Kirstinebjergvej 10, DK-5792 Aarslev, DENMARK

One of the control strategies of fungal crop diseases is planting highly resistant varieties. However selection pressure on the pathogen, imposed by major resistance genes, leads to the development of new virulent races. In most cases breakdown of resistance were reported for crop-pathogen systems with a genetically uniform crop distributed over large areas. Recently, the cases of pathogen invasion by adaptation to different resistant host-genotypes were manifested. Thus, there is a need to derive new strategies of breeding and spatial deployment of resistant cultivars, which would lead to durable resistance. To attain this goal we developed a dynamical model for the evolution of pathogen virulence under a multilocus gene-for-gene interaction with hosts in a two dimensional habitat. The model was verified by applying to the epidemic development of apple scab, caused by the fungus *Venturia inaequalis*, in Denmark. We used a population genetic approach to identify which of traits (mutation, recombination, migration) were significant in the process of successive breakdowns of resistant hosts carrying different major resistance genes and their pyramids. Finally we focused on studying the role of recombination of pathogen genotypes and their spread. Combination of population dynamics and genetics, providing an explicit simulation of the spatial patterns of disease propagation, allows us to test different hypothesis concerning prevention of the invasion of a virulent pathogen strain. In particular, we can compare the efficacy of host-heterogeneity introduced to the pathosystem at the genetic or population level. What is better to pyramid several resistance genes into a single cultivar or to plant mixtures of cultivars with different resistance genes? Do optimal planting patterns exist or not? The effective long-term strategies against pathogens are discussed. The authors would like to thank Charles-Eric Durel and Christian Lannou for comments and fruitful discussions.

Mécanismes moléculaires impliqués dans l'évolution vers la virulence aux loci d'avirulence *AvrLm1* et *AvrLm6* dans des populations naturelles de *Leptosphaeria maculans*

L. Gout (1, 2), I. Fudal (1), S. Ross (1), M.-L. Kuhn (1), M.-H. Balesdent (1), T. Rouxel (1)

(1) INRA, PMDV, Route de St Cyr, 78016 Versailles

(2) INA-PG, Protection des Plantes, 78850 Thiverval Grignon

Leptosphaeria maculans, agent de la nécrose du collet des crucifères, développe des interactions gène-pour-gène avec les cultivars de colza (*Brassica napus*). Dans ce pathosystème, les analyses des interactions différentielles ont conduit à la caractérisation génétique de 9 gènes d'avirulence (*AvrLm1* à *AvrLm9*) et à l'identification des neuf gènes de résistance correspondant (*Rlm1* à *Rlm9*) chez des espèces de *Brassica* hôtes (*B. napus*, *B. rapa* et *B. juncea*). Actuellement, le contrôle de la maladie repose essentiellement sur l'utilisation de variétés possédant un ou plusieurs de ces gènes *Rlm*. Cependant, l'histoire de la culture du colza en France a mis en évidence que la durabilité de ces gènes est très limitée en absence de stratégie de gestion des résistances variétales. Le gène *Rlm1* a ainsi été contourné après seulement quelques années d'utilisation en culture sur de grandes surfaces et le contournement du gène *Rlm6* a été obtenu en conditions expérimentales en seulement 3 années.

Les gènes d'avirulence correspondants, *AvrLm1* et *AvrLm6*, ont été récemment clonés et caractérisés chez *L. maculans*, suite à une très longue marche chromosomique initiée en 1999. Les gènes *AvrLm1* et *AvrLm6* codent pour de petites protéines secrétées, possédant un et six résidus cystéine, respectivement, et sont exprimés constitutivement. Ces deux gènes appartiennent à un même cluster génétique et sont isolés dans deux grandes régions non codantes du génome, composées très majoritairement de copies de rétrotransposons à LTR dégénérées sous l'effet du RIP (Repeat Induced Point mutations).

Le polymorphisme des gènes *AvrLm1* et *AvrLm6* a été évalué dans des populations naturelles de *L. maculans* collectées en France et chez des souches australiennes afin d'étudier les mécanismes moléculaires responsables du gain de virulence à ces deux loci Avr. Comme observé pour d'autres gènes Avr fongiques, la délétion du gène et l'accumulation de mutations ponctuelles sont les deux principaux mécanismes d'évolution de *AvrLm1* et *AvrLm6* pour contourner les gènes *Rlm* correspondants. Cependant, leur localisation génomique particulière a fortement affecté la taille des fragments chromosomiques délétés et le patron de mutations le long de la séquence de ces gènes. Ainsi, (i) la délétion de ces gènes, observées chez la majorité des souches naturelles, s'accompagne le plus souvent de réarrangements chromosomiques majeurs, résultant probablement d'événements de recombinaison ectopiques entre copies de rétrotransposons, et (ii) l'analyse du patron de mutation des rares allèles virulents identifiés a révélé qu'ils étaient dégénérés sous l'action du RIP, de manière similaire aux séquences répétées de la région génomique environnante. Le niveau de polymorphisme des allèles avirulents *AvrLm1* et *AvrLm6* ainsi que la diffusion des allèles de virulence *avrLm1* dans les populations françaises de *L. maculans* seront également discutés.

530625

Un graal moléculaire : Recherche de marqueurs microsatellites chez les champignons

C. Dutech (1), E. Fournier (2), J. Enjalbert (3), F. Delmotte (4), B. Barrès (5), J. Carlier (6), D. Tharreau (6), T. Giraud (7)

(1) UMR BIOGECO, Equipe de Pathologie Forestière, INRA Pierroton, 33612 Cestas

(2) Unité PMDV, INRA, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex

(3) UMR Epidémiologie Végétale et Ecologie des Populations, INRA, 78850 Thiverval Grignon

(4) UMR Santé Végétale, INRA Bordeaux, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon

(5) UMR IAM, Equipe de Pathologie Forestière, INRA Nancy, 54280 Champenoux

(6) UMR BGPI, CIRAD-CA, TA 41 / K, 34398 Montpellier Cedex 5

(7) UMR 8079 CNRS-UPS-ENGREF, Laboratoire ESE, Université Paris-Sud, 91405 Orsay Cedex

Les microsatellites, de par leur amplification aisée et répétable, leur co-dominance et leur fort polymorphisme, sont aujourd'hui parmi les marqueurs moléculaires les plus utilisés dans les études de diversité génétique. Paradoxalement, on constate dans la littérature que les banques construites pour isoler ces marqueurs chez les champignons sont sous représentées par rapport à d'autres organismes comme les plantes, oiseaux, mammifères ou insectes. Nous avons tenté de déterminer si cette faible représentation était la conséquence du manque de généticiens des populations investis dans les études de pathologie ou d'une difficulté technique à isoler ces marqueurs, à cause de spécificité génomique ou de polymorphisme. L'existence d'un groupe français de généticiens des populations ayant tenté d'isoler avec une méthodologie commune des microsatellites chez différents champignons pathogènes nous a permis d'établir un bilan de l'efficacité de ces méthodes. Il apparaît que le nombre et la taille des microsatellites isolés et amplifiables sont globalement faibles, voir très faibles, pour la plupart des organismes fongiques étudiés. D'autre part, une étude bibliographique montre clairement que la taille des microsatellites publiés pour les champignons, similaire à celles de nos travaux, est significativement plus petite que la plupart des taxons étudiés par ailleurs (insectes, mammifères, poissons et plantes). De même, leur polymorphisme est significativement plus faible. Ces résultats soulignent la difficulté d'obtenir chez la plupart des champignons (et pathogènes en particulier) des marqueurs microsatellites polymorphes indispensables aux études de génétiques des populations. Ceci est certainement dû à la fois à un faible nombre de longs microsatellites dans les génomes fongiques et à des traits d'histoire de vie limitant le polymorphisme. D'autres stratégies de recherche de marqueurs sont donc sans doute nécessaires chez ces organismes.

LUNDI 16 JANVIER 2006 – APRES-MIDI

Session : TAXONOMIE, PHYLOGENIE ET GENETIQUE DES POPULATIONS (suite)

Animateurs : Jérôme Enjalbert (INRA / Grignon), Pascal Frey (INRA / Nancy)

16h00 – 18h00 PAUSE GOUTER et Session Posters : TAXONOMIE, PHYLOGENIE ET GENETIQUE DES POPULATIONS

Sous-session : Taxonomie, Phylogénie et Communautés

- 18h00 – 18h20** **Renaud Ios (INRA / Nancy)**
Investigations moléculaires sur l'origine de l'hybride naturel *Phytophthora alni*, parasite émergent responsable du dépérissement de l'aune en Europe
- 18h20 – 18h40** **Pierre-Emmanuel Courty (INRA / Nancy)**
Dynamique spatio-temporelle et fonctionnelle de la communauté ectomycorhizienne dans une chênaie-charmaie de Lorraine

Sous-session : Fitness et adaptation

- 18h40 – 19h10** **Oliver Kaltz (CNRS-UMR 7103 / Paris)**
Experimental coevolution in a microbial host-parasite system: direct and indirect costs of resistance
- 19h10 – 19h30** **Mamadou Mboup (INRA-INAPG / Grignon)**
Influence de l'adaptation à l'hôte et au climat dans la structuration des populations de rouille jaune (*Puccinia striiformis* f.sp *tritici*) en France
- 19h30 – 19h50** **Josselin Montarry (UMR Bio3P / Rennes)**
Sélection d'une population locale de *Phytophthora infestans* par des variétés de pomme de terre présentant différents niveaux de résistance
- 19h50 – 20h10** **Henriette Goyeau (INRA / Grignon)**
Clonalité et sélection par l'hôte chez *Puccinia triticina*
- 20h10 – 20h30** **Bénédicte Parriaud (INRA / Grignon)**
Agressivité de la rouille brune du blé (*Puccinia triticina*) et adaptation du parasite à son hôte
- 20h30 – DINER**
- 21h30 – 22h30** **Table ronde "Gestion des ressources biologiques fongiques"**
Animateur : Daniel Bieysse (UMR BGPI / Montpellier)

Investigations moléculaires sur l'origine de l'hybride naturel *Phytophthora alni*, parasite émergent responsable du dépérissement de l'aulne en Europe

R. Ioos (1,2), A. Andrieux (1), P. Frey (1)

(1) INRA, UMR1136, équipe de Pathologie Forestière, route d'Amance, 54280 Champenoux

(2) Laboratoire National de la Protection des Végétaux, UMAF, Domaine de Pixérécourt, 54220 Malzéville

Depuis le début des années 1990, la population naturelle d'aulnes en Europe est menacée par l'apparition d'une nouvelle maladie causée par un *Phytophthora*. Ce dernier est capable de provoquer la mort d'un arbre adulte en moins de trois années. Il a été démontré que cet Oomycète, *Phytophthora alni*, est un hybride naturel dont les espèces parentales sont encore mal définies, bien qu'il ait été suggéré que *P. cambivora* était une des espèces impliquées (Brasier *et al.*, 1999). *P. alni* se décline en plusieurs variants, tous pathogènes sur aulne mais suffisamment différents sur les plans morphologique et génétique pour être aujourd'hui séparées en sous espèces : *P. alni* subsp. *alni* (*Paa*), *P. alni* subsp. *uniformis* (*Pau*) et *P. alni* subsp. *multiformis* (*Pam*) (Brasier *et al.*, 2004). Afin de mieux comprendre la genèse de cet hybride et la relation entre les trois sous-espèces, la présence et la distribution des allèles de plusieurs gènes nucléaires contenant des introns ont été étudiées sur une large collection de *P. alni* et d'espèces phylogénétiquement proches. En complément, l'ADN mitochondrial a été étudié par RFLP et par séquençage de deux gènes. La combinaison des données nucléaires et mitochondriales montre que i) *Pau* ne semble pas avoir été impliqué par une réticulation, ii) *Pam* présente deux allèles fortement divergents pour chaque gène nucléaire étudié, traduisant le fait que cette espèce aurait été concernée par une réticulation ou une autopolyploidisation, iii) *Paa* cumule les allèles présents chez *Pam* et *Pau* et a probablement été créé par hybridation entre *Pam* et *Pau* ou d'espèces qui leur sont très proches, et ceci à plusieurs occasions.

Références :

Brasier, C.M., Cooke, D.E.L., and Duncan, J.M., 1999. Origin of a new *Phytophthora* pathogen through interspecific hybridization. P.N.A.S. 96, 5878-5883.

Brasier, C.M., Kirk, S.A., Delcan, J., Cooke, D.E.L., Jung, T., and Man in't Veld, W.A. 2004, *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants: designation of emerging allopolyploid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. Mycol. Res. 108, 1172-1184.

Dynamique spatio-temporelle et fonctionnelle de la communauté ectomycorhizienne dans une chênaie-charmaie de Lorraine

P.-E. Courty, F. Martin, J. Garbaye

UMR 1136 INRA-UHP Interactions Arbres/Microorganismes, INRA-Nancy, 54280 Champenoux

Dans les forêts boréales et tempérées, la majorité des racines fines absorbantes sont colonisées par des champignons ectomycorhiziens. Une très grande diversité d'espèces de Basidiomycètes ou d'Ascomycètes formant des ectomycorhizes (EM) est associée à un même peuplement. Les EMs sont impliquées notamment dans la nutrition hydro-minérale des arbres. Les hyphes qui explorent le sol sont impliqués dans l'altération des minéraux, dans la mobilisation du phosphore organique et inorganique ou la libération de l'azote à partir de macromolécules organiques complexes, par la sécrétion d'enzymes extracellulaires. Les données acquises *in situ* sur les activités des EMs sont encore peu nombreuses (Jany *et al.*, 2003; Buée *et al.*, 2004). Nous avons déterminé mensuellement la structure spécifique de la communauté ectomycorhizienne d'une chênaie-charmaie adulte (*Quercus robur*, *Quercus petraea*, *Carpinus betulus*), ainsi que huit capacités potentielles de mobilisation des types d'EM dominants: activités phosphatase acide, chitinase, endopeptidase à leucine, glucosidase, laccase, xylosidase, glucuronidase et cellobiase.

Les morphotypes rencontrés ont été caractérisés morphologiquement ainsi que par séquençage de la région ITS de l'ADNr. Les huit activités enzymatiques potentielles ont été mesurées sur des apex excisés individuels à l'aide de tests miniaturisés en plaque de microtitration utilisant des substrats fluorescents. Un système nouveau développé par Pritsch *et al.* (2004) et optimisé par notre équipe (Courty *et al.*, 2005) permet de mesurer successivement différentes activités enzymatiques secrétées sur les mêmes apex.

La structure spécifique de la communauté varie avec la saison et l'horizon de prélèvement. Pour une même espèce fongique, les profils d'activités obtenus peuvent être similaires (*Tomentella* sp.) ou variables (*Lactarius quietus*) en fonction de la saison. Un même profil peut également être partagé par différents morphotypes lors de différentes périodes de prélèvement (*L. quietus* et *Cortinarius anomalus*).

Afin d'élucider la régulation de ces exoenzymes *in-situ*, nous caractérisons les séquences et l'expression des différents gènes codant les laccases de deux champignons: *Laccaria bicolor* et *Lactarius quietus*.

Références :

- Buée M, Vairelles D, Garbaye J. 2004. Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus sylvatica*) forest subjected to two thinning regimes. *Mycorrhiza* 15 (4): 235–245.
- Jany JL, Martin F, Garbaye J. 2003. Respiration activity of ectomycorrhizas *Cenococcum geophilum* and *Lactarius* sp. in relation to soil water potential in five beech forests. *Plant and Soil* 255: 487–494.
- Pritsch K, Raidl S, Marksteiner E, Blaschke H, Agerer R, Schloter M, Hartmann A. 2004. A rapid and highly sensitive method for measuring enzyme activities in single mycorrhizal tips using 4-methylumbelliféron-labelled fluorogenic substrates in a microplate system. *Journal of Microbiological Methods* 58: 233–241.
- Courty PE, Pritsch K, Schloter M, Hartmann A, Garbaye J. 2005. Activity profiling of ectomycorrhiza communities in two forest soils using multiple enzymatic tests. *New Phytologist* 167 : 309–319.

Experimental coevolution in a microbial host-parasite system: direct and indirect costs of resistance

O. Kaltz (1), K. Lohse (2), A. Gutierrez (1)

(1) Laboratoire de Parasitologie Evolutive, CNRS-UMR 7103, Université Pierre et Marie Curie, 75252 Paris Cedex 05

(2) Environmental and Evolutionary Biology, School of Biology, University of St. Andrews, St. Andrews, Fife, KY16 9TH, UNITED KINGDOM

Host-parasite coevolution is thought to consist of cycles of adaptation and counter-adaptation, driven by frequency-dependent selection. This requires that different parasite genotypes perform differently on different host genotypes. Such genotype-by-genotype interactions arise if adaptation to one host (parasite) genotype reduces performance on others. These direct costs of adaptation can maintain genetic polymorphism and generate geographic patterns of local host or parasite adaptation. Fixation of all-resistant (or all-infective) genotypes is further prevented if adaptation trades off with other host (or parasite) life history traits. For the host, such indirect costs of resistance refer to reduced fitness of resistant genotypes in the absence of parasites. We studied (co)evolution in experimental microcosms of several clones of the freshwater protozoan *Paramecium caudatum*, infected with the bacterial parasite *Holospora undulata*. After 2 1/2 years of culture, inoculation of evolved and naïve (= never exposed to the parasite) hosts with evolved and founder parasites revealed an increase in host resistance, but not in parasite infectivity. A cross-infection experiment showed significant host clone x parasite isolate interactions, and evolved hosts tended to be more resistant to their own (local) parasites than to parasites from other hosts. Compared to naïve clones, evolved host clones had lower division rates in the absence of the parasite. Thus, our study indicates *de novo* evolution of host resistance, associated with both direct and indirect costs. This illustrates how interactions with parasites can lead to the genetic divergence of initially identical populations.

Influence de l'adaptation à l'hôte et au climat dans la structuration des populations de rouille jaune (*Puccinia striiformis* f.sp *tritici*) en France

M. Mboup, M. Leconte, C. de Vallavieille-Pope, J. Enjalbert

INRA-INAPG, Epidémiologie Végétale et Ecologie des Populations, 78850 Thiverval-Grignon

Chez les parasites biotrophes tels que la rouille jaune du blé (*Puccinia striiformis* f.sp *tritici*), les résistances de l'hôte exercent des pressions de sélection majeures qui modèlent la diversité génétique des populations d'agents pathogènes. Toutefois, les conditions climatiques sont bien connues pour affecter grandement le développement épidémique des maladies, mais leur effet sur la diversité génétique des populations est beaucoup moins bien décrit. La rouille jaune est une maladie qui se développe sous des conditions fraîches et humides. Une divergence génétique très nette entre les populations du Sud et du Nord de la France a été observée au niveau des virulences et de marqueurs moléculaires. Ainsi, la moitié Nord de la France présente des pathotypes possédant de nombreuses virulences, alors que dans le Sud un pathotype (6E16) possédant des virulences spécifiques prédomine. La présence en faible fréquence des pathotypes du Sud au Nord de la France, et vice versa, témoigne de l'absence de barrière empêchant les échanges de spores entre les deux zones géographiques. Si le pathotype 6E16 possède un spectre de virulence inadapté aux variétés du Nord, les pathotypes Nord sont quant à eux virulents pour les variétés du Sud, et devraient donc coloniser l'ensemble du territoire. Afin d'expliquer le maintien du pathotype 6E16 dans le sud, des avantages sélectifs autres que les virulences sont donc à rechercher. Du fait des différences climatiques entre les deux zones, nous avons testé l'effet de la température sur les différentes étapes du cycles infectieux (capacité de germination, efficacité d'infection, période de latence, sporulation) de différents isolats échantillonnés au Nord et au Sud de la France, lors de ces 15 dernières années. Les isolats du Sud sont plus adaptés aux températures élevées. Seuls les isolats 6E16 sont capables d'infecter le blé à 20°C et leur taux de germination est plus élevé que celui des autres isolats à cette température. Lorsque des plantes infectées sont incubées à 25°C, les isolats 6E16 sporulent plus rapidement et ont une production de spores 3.5 fois supérieure aux autres isolats. Il apparaît donc que la structuration des populations de rouille jaune ne dépend pas uniquement de la répartition des gènes de résistance dans les zones cultivées et que les facteurs climatiques doivent être pris en compte pour comprendre la répartition de ces populations.

Sélection d'une population locale de *Phytophthora infestans* par des variétés de pomme de terre présentant différents niveaux de résistance

J. Montarry, R. Corbière, S. Lesueur, I. Glais, D. Andrivon

UMR Bio3P, INRA Rennes, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu Cedex

Comprendre la sélection exercée par la plante hôte et ses conséquences sur la structure des populations pathogènes est essentiel à la gestion des maladies des plantes, que ce soit par la création variétale ou par l'identification des meilleures stratégies de déploiement de ces variétés dans le temps et l'espace.

La réponse à la sélection exercée par les gènes majeurs, impliqués dans les résistances race spécifiques, a été démontrée pour de nombreux pathosystèmes dans le passé, y compris le mildiou de la pomme de terre. En revanche, peu d'éléments sont disponibles concernant la sélection exercée par une résistance quantitative, partielle, supposée race non-spécifique.

Nous cherchons ici à savoir si les patrons adaptatifs des populations de *Phytophthora infestans* sont similaires pour ces deux types de résistance, et si ils sont reliés au polymorphisme génotypique déterminé avec des marqueurs moléculaires.

Pour ce faire, des isolats français de *Phytophthora infestans* ont été échantillonnés deux années consécutives (2001 et 2002) sur des variétés de pomme de terre présentant différents niveaux de résistance (Bintje – variété sensible, Désirée – variété partiellement résistante et Naturella – variété à résistance spécifique conférée par le gène R2), et caractérisés biologiquement pour le type sexuel et le pouvoir pathogène (virulence et agressivité) et génétiquement en utilisant des marqueurs moléculaires (AFLP).

Les populations locales étudiées sont clairement structurées par l'hôte pour la virulence : seuls les isolats originaires de Naturella sont capables d'attaquer cette variété. Mais ces populations sont également structurées par l'hôte pour l'agressivité : les isolats originaires du cultivar sensible (Bintje) sont les plus agressifs tant sur Bintje que sur Désirée, sans adaptation différentielle entre ces deux génotypes. La diversité génotypique observée est faible, ce qui suggère que la collection est constituée de quelques lignées clonales proches, et que la reproduction sexuée ne joue pas de rôle dans ces populations (malgré la présence conjointe des deux types sexuels A1 et A2 sur la parcelle en 2002). Aucune corrélation n'a été détectée entre le pouvoir pathogène et le groupe AFLP des différents isolats.

Ces données indiquent que l'adaptation pour le pouvoir pathogène a lieu dans les populations de *Phytophthora infestans*, mais que les patrons adaptatifs dépendent du type de résistance considéré. Il est donc indispensable d'établir des stratégies de déploiement des variétés adaptées à ces patrons adaptatifs.

Références :

Montarry J., Corbière R., Lesueur S., Glais I., Andrivon D. 2005. Does selection by resistant hosts trigger local adaptation in plant-pathogen systems? *Journal of Evolutionary Biology*, In Press.

Clonalité et sélection par l'hôte chez *Puccinia triticina*

H. Goyeau (1), F. Halkett (2), M.-F. Zapater (2), J. Carlier (2), C. Lannou (1)

(1) UMR Epidémiologie Végétale et Ecologie des Populations, INRA INA-PG, 78850 Thiverval-Grignon

(2) CIRAD - UMR BGPI, TA 41 / K, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5

Des études antérieures ont permis de montrer que les populations de rouille brune du blé (*Puccinia triticina*, basidiomycète dicaryotique) se reproduisent de façon clonale et se structurent en fonction de la plante hôte. Sous l'angle de la génétique des populations, la structure clonale se traduit par des profils multilocus répétés et de forts déséquilibres de liaison (identifiés à l'aide de marqueurs RAPD et AFLP). Néanmoins ces études n'ont pas permis de certifier l'absence d'évènements de recombinaison ni de quantifier le niveau de pression de sélection exercé par l'hôte.

Le double objectif de notre étude était i) de préciser la structure clonale des populations, en particulier en quantifiant le niveau d'hétérozygotie à l'aide de marqueurs neutres codominants (microsatellites) et ii) de quantifier le niveau de différenciation génétique et phénotypique de populations prélevées sur des variétés différentes. Un échantillonnage systématique a été réalisé sur des parcelles de 1 Ha de deux variétés différenciées pour leurs gènes de résistance à la rouille brune : Soissons (gène de résistance *Lr14a*) et Trémie (gènes de résistance *Lr10*, *Lr13*).

Outre la présence de génotypes multilocus répétés et de déséquilibre de liaison entre locus, la caractérisation des isolats à l'aide de 10 marqueurs microsatellites a révélé un taux d'hétérozygotie très important, synthétisé par des valeurs de F_{IS} fortement négatives. Ces trois éléments témoignent d'un régime de reproduction principalement clonal. En outre, l'étude de la variance du F_{IS} entre locus nous permet de discuter l'occurrence de recombinaison au sein des populations étudiées. Chaque pathotype ou famille de pathotypes (différant entre eux par 1 ou 2 virulences seulement) correspond à un génotype unique. La diversité génotypique demeure toutefois non négligeable, puisque 14 pathotypes, correspondant à 9 génotypes différents, ont été trouvés dans la parcelle de Soissons (sur 180 individus échantillonnés). La corrélation (test de Mantel) entre distance génétique (allèles partagés) et phénotypique (présence/absence des virulences) est très significative ($p < 0.001$). Notre étude confirme également un fort niveau de différenciation génétique entre parcelles. Etant donné les capacités de migration du pathogène, cette étude atteste que la sélection par l'hôte est bien le moteur de la différenciation génétique et phénotypique.

Agressivité de la rouille brune du blé (*Puccinia triticina*) et adaptation du parasite à son hôte

B. Pariaud (1), C. Robert (2), H. Goyeau (1), C. Lannou (1)

INRA Centre de Grignon, (1) UMR Epidémiologie végétale, 78850 Thiverval-Grignon

(2) UMR Environnement et grande cultures, 78850 Thiverval-Grignon

Le rôle de l'agressivité (variation quantitative de maladie induite par une souche virulente sur un hôte donné) dans l'évolution et la structuration des populations pathogènes est encore méconnu. Posséder un certain nombre de virulences est une condition nécessaire pour infecter telle ou telle variété, mais ce n'est pas une condition suffisante pour s'y développer à fréquence élevée. Ainsi, des pathotypes sont trouvés à très basse fréquence sur une variété sensible "A", alors qu'ils y sont virulents et qu'ils sont majoritaires dans une parcelle voisine de variété sensible "B". Pour expliquer de telles observations, nous supposons que certains pathotypes sont plus agressifs, donc mieux adaptés, sur certaines variétés. La rouille brune du blé est un support biologique intéressant pour tester cette hypothèse, car, sur une variété donnée, un ou quelques pathotypes sont trouvés en haute fréquence, alors que de nombreux pathotypes y restent minoritaires bien que virulents. Cette étude a pour but de comparer, sur plante adulte, les niveaux d'agressivité de trois pathotypes virulents sur la variété Soissons mais présents à des fréquences contrastées : l'un d'eux étant majoritaire, les deux autres très minoritaires bien que présents sur d'autres variétés. Différents paramètres du cycle infectieux sont mesurés en serre pour 40 isolats: efficacité d'infection, période de latence, taille des lésions, sporulation par lésion et par unité de surface de lésion, sénescence des tissus infectés. Quels que soient les paramètres, des différences d'agressivité significatives sont observées entre les pathotypes. De plus, le pathotype prédominant est associé aux niveaux d'agressivité les plus forts : selon les paramètres, il est de 9 à 34% plus agressif que les pathotypes minoritaires sur la variété étudiée. Ainsi l'agressivité est un facteur explicatif de la structuration observée des populations françaises de rouille brune du blé. Une adaptation quantitative du pathotype majoritaire à la variété étudiée, lui conférant de meilleures performances aux étapes-clés du cycle infectieux, serait à l'origine de sa prédominance par rapport aux autres pathotypes virulents. Nos résultats indiquent que cette adaptation pourrait passer par des lésions plus grandes (capacité de colonisation du parasite) et par une sporulation par unité de surface de lésion plus importante (capacité d'exploitation des ressources de l'hôte). Des possibles compromis entre les composantes d'agressivité sont également détectés chez les pathotypes minoritaires. Ces résultats nous permettent d'appréhender la gestion de l'adaptation du parasite à son hôte à la fois sur les caractères qualitatifs (virulences) et quantitatifs (agressivité). Une perspective intéressante est l'étude de l'adaptation des parasites aux résistances hôtes partielles.

MARDI 17 JANVIER 2006 - MATIN

Session : **EPIDEMIOLOGIE**

Animatrices : Lydia Bousset (INRA / Rennes), Henriette Goyeau (INRA / Grignon)

Sous-session : Répartition spatio-temporelle

- 8h30 – 9h00** **Mike Shaw (Université de Reading / UK)**
What should a good epidemiological question look like?
- 9h00 – 9h20** **Renaud Travadon (INRA – UMR Bio3P / Rennes)**
La pluie disperse efficacement les pycniospores de *Leptosphaeria maculans*, agent du phoma du colza
- 9h20 – 9h40** **Doug Bailey (INRA / Rennes)**
Inoculum and disease dynamics of soil borne plant pathogens in consecutive crops: An epidemiological analysis
- 9h40 – 10h00** **Marie Gosme (INRA / Rennes)**
Analyse de la structure spatiale d'épidémies naturelles de piétin-échaudage du blé causé par *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*
- 10h00 – 10h20** **Joseph Mouen Bedimo (IRAD / Cameroun)**
Répartition spatiale de l'antracnose des baies du caféier arabica (*Colletotrichum kahawae*) à l'échelle d'une parcelle au Cameroun
- 10h20 – 10h50** **PAUSE CAFE**

Sous-session : Dommages à l'hôte et contrôle des épidémies

- 10h50 – 11h10** **Christian Lannou (INRA / Grignon)**
Gestion régionale du risque épidémique : simulation de scénarios
- 11h10 – 11h30** **Corinne Robert (INRA / Grignon)**
Vers un modèle couplé « blé – septoriose » : notation des symptômes, quantification et hiérarchisation des dommages
- 11h30 – 11h50** **Lia Arraiano (Disease and Stress Biology Department, Norwich / UK)**
Genetic analysis of *Septoria tritici* blotch to improve resistance in European wheat breeding programmes
- 11h50 – 12h10** **Arnaud Dowkiw (INRA / Orléans)**
Remise en cause du potentiel de durabilité des résistances quantitatives à *Melampsora larici-populina* chez le peuplier hybride interaméricain
- 12h10 – 12h20** **Présentation des Sessions Posters : *EPIDEMIOLOGIE et INTERACTIONS MOLECULAIRES***

What should a good epidemiological question look like?

M. Shaw

School of Biological Sciences - Plant Science Laboratory - L4 TOB2 - Earley Gate - Whiteknights - Readings - Berks
RG6 6AS – UNITED KINGDOM

The question defining epidemiology is perhaps 'Why has my crop become diseased?' To answer this question requires good etiology and well-defined questions about pathogen life-cycle, host, environment and management, susceptible to answer by experiment. Assumptions about etiology and life-cycle based on circumstantial evidence are often accepted and appear often to be wrong: examples from my own work include *Mycosphaerella graminicola* - assumed to be trash-borne, but with air-borne ascospores critical - and *Botrytis cinerea* - assumed to be airborne and localised, but in some crops seed-borne and systemic. With correct etiology and life cycle it is frequently assumed that all we then need to know for management is some simple function of the environment, usually as measured by commercial instruments. In practice this is extremely hard to investigate, because there are logical and/or statistical gaps between the information available and the inferences we seek; it will only be true if environment (and not host, other organisms, or intrinsic biology) is what limits pathogen populations. Statistically, there are major problems due to the correlation of environment in different locations, and the corresponding lack of degrees of freedom in what otherwise seem large experiments. Logically there are problems to do with what we measure and how we reduce an infinity of dimensions in environmental records to manageable dimensions. My examples will include the same pathogens as before: in which long-term changes in *M. graminicola* may be mediated by acid rain; while conditions leading to disease in plants infected by *B. cinerea* are as much to do with the host physiology as the environment, but the cumulated environment determines the host physiology. My conclusion is that scientifically we should recognise that in some areas our knowledge is distressingly limited; and in giving advice and in politics we should plan for the unexpected, and constantly look for the unexpected assumption we did not know we had - but which has now proved unfounded.

La pluie disperse efficacement les pycniospores de *Leptosphaeria maculans*, agent du phoma du colza

R. Travadon (1), I. Sache (2), H. Brun (1), L. Bousset (1)

(1) UMR BiO3P, Domaine de la Motte, BP 35327, Le Rheu Cedex

(2) UMR Epidémiologie Végétale et Ecologie des Populations, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon

Le champignon ascomycète hétérothallique *Leptosphaeria maculans* est l'agent du phoma du colza, une des maladies les plus dommageables pour cette culture. L'utilisation de gènes majeurs de résistance permet de lutter efficacement contre la maladie, mais cette stratégie ne s'avère pas durable. Bien que le cycle de vie du champignon soit complètement élucidé, le rôle des cycles de reproduction secondaires dus aux spores issues de la reproduction asexuée (pycniospores) est mal documenté et limite donc nos connaissances sur les mécanismes épidémiologiques s'opposant à la durabilité des résistances. Notre objectif était de vérifier et de quantifier la dispersion par la pluie des pycniospores de *L. maculans* à partir de feuilles malades et la transmission par la pluie de la maladie à partir de résidus de culture porteurs de pycniospores. Nous avons travaillé en air calme avec un générateur de gouttes et un simulateur de pluie. A partir d'une feuille malade, la dispersion des pycniospores de *L. maculans* à l'intérieur de gouttelettes d'éclaboussures issues des gouttes incidentes (mécanisme de *rain splash*) a été mise en évidence. Même si 90 % de ces spores ont été collectées à moins de 12 cm de la source, une minorité d'entre elles a systématiquement été transportée jusqu'à 40 cm de la source. Les pycniospores produites sur les résidus de culture de colza ont également été dispersées par la pluie simulée et ont infecté des plantules pièges de colza, simulant la transmission de la maladie entre deux cycles successifs de culture. Une gouttelette d'éclaboussure contenant des spores constitue une unité infectieuse de dissémination de la maladie de telle sorte que la dispersion spatiale de la maladie correspond à la dispersion spatiale des pycniospores. Lors de l'introduction au champ d'un nouveau gène majeur de résistance, la dissémination par *rain splash* d'individus virulents de type sexuel opposé présents à faible densité et initialement distants les uns des autres peut permettre à ces individus de se rencontrer sur une même plante ; à l'issue de cette rencontre, la reproduction sexuée pourrait produire des ascospores dispersées à longue distance par le vent. Ce mécanisme favoriserait l'augmentation en fréquence des individus virulents responsable du contournement des résistances.

Inoculum and disease dynamics of soil borne plant pathogens in consecutive crops : An epidemiological analysis

**D. Bailey (1), P. Lucas (1), M. Gosme (1) N. Paveley (2), J. Spink (3), A. Kleczkowski (4)
C. Gilligan (4)**

(1) INRA - Agrocampus Rennes UMR BiO3P, BP 35327 F - 35653 Le Rheu Cedex

(2) ADAS High Mowthorpe, Duggleby, Malton, North Yorkshire YO17 8BP, UNITED KINGDOM

(3) ADAS Rosemaund, Preston Wynne, Hereford HR1 3PG, UNITED KINGDOM

(4) Department of Plant Sciences, University of Cambridge, Downing Street, Cambridge, CB2 3EA, UNITED KINGDOM

Strategies for sustainable control of economically-important soil-borne disease of crops requires a shift in current emphasis from tactical application of control in a single crop to consider the dynamics of control during a sequence of crops. The disease status in successive crops reflects a highly nonlinear, often stochastic and spatially heterogeneous amplification, decay and dispersal of inoculum during sequential parasitic and saprotrophic phases of the epidemic. Control in one season therefore influences the amount and the distribution of inoculum in the following season. In this paper we present an overview of the disease and inoculum dynamics over consecutive crops together with their control for two contrasting patho-systems; damping-off of vegetables by *Rhizoctonia solani* using microcosm experimentation and field epidemics of take-all caused by *Gaeumannomyces graminis* in a sequence of winter wheat crops. In the former, changes in the net infectivity of inoculum at the beginning of first and second crops caused a switch in epidemiological dynamics. Epidemics of first crops were dominated by secondary infection leading to amplification of inoculum so that epidemics of second crops were overwhelmingly determined by a high rate of primary infection. The biocontrol agent reduced primary infection and hence parasitic amplification of inoculum in both first and second crops but the efficiency of control dropped from 91.7% in first crops to 64.8% in second crops with sudden outbreaks of disease in second crops that had previously been disease-free. We conclude that parasitic amplification can cause a rapid build-up of disease and inoculum over consecutive crops leading to loss in the efficiency of biocontrol. This form of inoculum production is supplemented by saprotrophic infestation that can result in sudden outbreaks of disease in protected crops where control of disease had previously been fully successful. For take-all of wheat, first wheat crops were characterised by low rates of primary infection and secondary infection with little evidence of disease suppression and a low rate of inoculum decay. Second and third wheats were characterised by high rates of primary and secondary infection and with increasing evidence of disease suppression and more rapid decay of inoculum. In subsequent wheat crops, the rate of primary infection remained high but a reduction in the rate of secondary infection was detected leading to less severe epidemics and the well-known phenomenon of take-all decline.

Analyse de la structure spatiale d'épidémies naturelles de piétin-échaudage du blé causé par *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*

M. Gosme (1), L. Willocquet (2), P. Lucas (1)

(1) INRA Centre de Rennes, UMR BiO3P, Domaine de la Motte, BP 29, 35653 LE RHEU Cedex

(2) INRA Centre de Bordeaux, UMR Santé Végétale, 71 avenue E. Bourleaux, BP 81, 33883 Villenave d'Ormon Cedex

L'analyse de la structure spatiale des maladies des plantes peut être un outil utile en épidémiologie botanique : elle permet d'améliorer la stratégie d'échantillonnage, d'aider à comprendre les mécanismes responsables de la dispersion de la maladie et d'améliorer les stratégies de gestion. Le piétin-échaudage est réputé pour se développer en foyers mais aucune étude n'avait étudié statistiquement la structure spatiale de cette maladie à l'échelle présumée de ces foyers. L'objectif de cette étude était donc de caractériser la structure spatiale du piétin-échaudage à une échelle relativement fine (5 m sur 5 m), c'est-à-dire (i) déterminer si la maladie est agrégée et si oui, (ii) estimer la taille et la forme caractéristiques des foyers et (iii) étudier la relation entre incidence et hétérogénéité. L'analyse a été réalisée sur des épidémies naturelles de piétin-échaudage dans des parcelles de deuxième blé ayant subi différentes pratiques culturales qui sont susceptibles d'affecter différentes composantes de l'épidémie (quantité initiale d'inoculum, dispersion de l'inoculum et structure spatiale du peuplement) : différentes culture intermédiaires entre le premier et le second blé, différents travaux du sol et modes de semis. L'ajustement de la loi beta-binomiale à la distribution de fréquence du nombre de racines ou de plantes atteintes dans des quadrats de différentes tailles a permis de conclure à une agrégation significative dans 48% des cas lorsque l'incidence était évaluée à l'échelle des plantes et 83% des cas à l'échelle des racines. Les foyers étaient en général de taille inférieure à 1 m de diamètre dans le cas des attaques sur racines nodales, 1,5 m de diamètre dans le cas des attaques sur racines séminales et jusqu'à 2,5 m de diamètre dans les cas des foyers de plantes malades ; les foyers étaient de forme allongée dans le sens des travaux du sol. La taille des foyers n'a pas augmenté au cours de la saison culturale mais nous avons observé une augmentation de l'agrégation avec l'incidence moyenne, ce qui reflète une amplification locale de la maladie au sein des foyers. Cette étude permet de proposer un scénario de développement du piétin-échaudage basé sur deux phases : une phase d'intensification et de dispersion sur de courtes distances pendant la saison culturale, qui permet d'augmenter l'hétérogénéité de la maladie dans la parcelle et modifie peu sa répartition spatiale, et une phase de dilution et de dispersion passive de l'inoculum par les travaux du sol entre deux cultures, qui détermine la forme et la taille des foyers d'inoculum et donc de maladie les années suivantes.

Répartition spatiale de l'antracnose des baies du caféier arabica (*Colletotrichum kahawae*) à l'échelle d'une parcelle au Cameroun

J. A Mouen Bedimo (1), D. Bieysse.(2), B. Bertrand (3), J.-L. Nottéghem (2), C. Cilas (4)

(1) Institut de Recherche Agronomique pour le Développement (IRAD), Station de Fombot, BP 665, Bafoussam, CAMEROUN

(2) Cirad-Inra-Ensam, UMR BGPI, Campus International de Baillarguet, TA 41 / K, 34398 Montpellier Cedex 5

(3) Cirad-Cultures Pérennes, UMR DGPC, Laboratoire Résistance, 911, avenue Agropolis, 34032 Montpellier 1

(4) Cirad-Cultures Pérennes, UPR Bioagresseurs de pérennes, Avenue Agropolis, TA 80 / 02 34398 Montpellier Cedex 5

L'antracnose des baies du caféier arabica ou Coffee Berry Disease (CBD), causée par *Colletotrichum kahawae* entraîne la pourriture des cerises et leur chute prématurée. Cette maladie occasionne d'importantes pertes de récoltes dans la région des hauts plateaux de l'Ouest du Cameroun, particulièrement dans les plantations paysannes situées à des altitudes élevées (>1600 mètres). Elle peut être contrôlée chimiquement par le biais d'applications régulières de fongicides appropriés et/ou par la mise en œuvre de pratiques agricoles défavorables au développement de l'agent pathogène. La compréhension des interactions dynamiques entre le pathogène, son hôte, et l'environnement qui conditionnent son développement seront étudiés à travers une approche expérimentale en milieu naturel afin de tenter d'optimiser l'efficacité des différentes méthodes de lutte utilisées contre le CBD. Dans deux sites aux conditions climatiques contrastées, un suivi hebdomadaire de la maladie sur des parcelles homogènes de caféiers contigus à Santa (1750m) et à Bafou (1820m) pendant deux années (2003 et 2004). Les cartes descriptives de la répartition spatiale de l'antracnose obtenues montrent que la contamination des plants dans une parcelle se fait de proche en proche, à partir des premiers caféiers infectés. Par ailleurs, l'analyse des semi-variogrammes et l'étude des cartes de dispersion de la maladie obtenues par *krigeage*, permettent de mettre en évidence, les foyers primaires d'infections dans les deux sites. Ils sont observés de la 9^e à la 11^e semaine après la floraison à Bafou et de la 13^e à la 15^e semaine à Santa. Ces résultats suggèrent l'idée de la possibilité d'une mise en œuvre des stratégies de lutte ciblées et moins contraignantes contre l'antracnose des baies à l'échelle d'une caféière.

Mots clés : caféier, antracnose, *Colletotrichum kahawae*, répartition spatiale, semi-variogrammes

Gestion régionale du risque épidémique : simulation de scénarios

C. Lannou (1), F. Besnier, P. Auger (2)

(1) UMR d'épidémiologie végétale, INRA Grignon, 78850 Thiverval Grignon

(2) UMR CNRS 5558, 69622 Villeurbanne

Peu de choses sont connues sur la dynamique interparcellaire des épidémies, ainsi que sur le fonctionnement épidémique d'une région de production. Des observations empiriques et des études de populations montrent que pour des parasites foliaires comme la septoriose ou les rouilles des céréales, qui se dispersent facilement, la dynamique épidémique et le risque global associé sont influencés par la distribution des variétés hôtes à l'échelle de la région. Pourtant, la plupart des connaissances en épidémiologie sur ces parasites se situent à l'échelle intra-parcelle. Nous développons à Grignon une modélisation du risque sanitaire sur grandes cultures, à l'échelle régionale, en nous focalisant sur les parasites à dispersion aérienne. En tenant compte des caractéristiques épidémiologiques de ces parasites et de la structure du peuplement cultivé (distribution géographique des variétés, type de résistance variétale, traitements fongicides), nous cherchons à explorer différents scénarios d'évolution de la protection des cultures et du risque épidémique associé. Le modèle utilisé est un modèle matriciel en temps discret, simulant des générations successives du parasite, et basé sur un nombre limité de paramètres (production de spores, efficacité des infections, taux d'échanges de spores entre plantes et parcelles, proportion des variétés). Les scénarios testés ici consistent à remplacer progressivement, dans un paysage de 100 parcelles, des cultures traitées soit par des cultures en mélange variétal soit par des variétés à résistance partielle. Ces changements ont pour conséquence une augmentation de la sensibilité globale du paysage. Cependant, le niveau d'infection des parcelles reste relativement faible, même lorsque les mélanges variétaux ou les variétés à résistance partielle représentent la totalité des parcelles. En particulier, le niveau global d'infection reste très faible par rapport à l'infection d'un paysage sensible qui serait non traité, ce qui indique un effet de réduction du risque épidémique global (les épidémies sont plus lentes dans les parcelles à résistance partielle mais chaque parcelle reçoit également moins de spores de ses voisines). Le nombre de parcelles de type sensible ou résistant n'est cependant pas suffisant pour expliquer complètement la quantité d'infections sur le paysage agricole. Le niveau d'infection dépend également de la répartition spatiale des parcelles sur le paysage, en particulier de la répartition relative des parcelles sensibles et résistantes. Afin de pouvoir caractériser la structure spatiale du paysage agricole, en relation avec le niveau de sensibilité des parcelles, un indice représentatif de la fragmentation du paysage a été établi, basé sur le nombre de frontières communes entre deux types de parcelles différentes (occupées par des variétés différentes) et le niveau de sensibilité de chaque variété présente. Cet indice fournit une assez bonne prédiction de la sensibilité globale à l'échelle du paysage agricole. Les simulations montrent également que le niveau de fragmentation influe nettement sur la sensibilité globale du paysage, et donc sur le risque individuel pour chaque parcelle.

Vers un modèle couplé « blé – septoriose » : notation des symptômes, quantification et hiérarchisation des dommages

C. Robert (1 et 2), M-O. Bancal (1), C. Lawless (2), B. Ney (1), C. Lannou (3)

INRA Grignon, (1) UMR EGC, 78850 Thiverval Grignon

(2) Rothamsted Research Centre, AL52JQ Harpenden, UNITED KINGDOM

(3) UMR Pathologie Végétale, 78850 Thiverval Grignon

Notre objectif est l'élaboration d'un modèle qui simule les pertes de récolte dues au complexe parasitaire foliaire du blé d'hiver en couplant de manière dynamique le fonctionnement du couvert et le développement épidémique, l'un influençant l'autre. Les simulations permettront d'identifier les caractères du couvert végétal qui réduisent la nuisibilité engendrée dans les gammes agricoles. Afin d'élaborer ce modèle il est nécessaire d'estimer les pertes de récoltes causées par les maladies foliaires. Pour cela, notre démarche consiste à modéliser le fonctionnement des feuilles malades puis à intégrer ce fonctionnement à l'échelle du couvert végétal. A l'échelle foliaire, il est nécessaire d'identifier les fonctions physiologiques atteintes, puis de quantifier les relations entre les symptômes (les maladies) et les dommages induits (dysfonctionnement des feuilles) par des relations de dommage les « plus robustes possibles ». Hiérarchiser les dommages quant à leur effet sur les pertes de récolte permet enfin de sélectionner ceux qui doivent être intégrés à l'échelle du couvert. Dans cette présentation, nous vous détaillons les travaux concernant la septoriose (*Septoria tritici*).

Des expérimentations en serre ont tout d'abord permis de quantifier les effets de la septoriose sur la photosynthèse, la respiration et la sénescence des feuilles malades. On montre que (i) la photosynthèse des feuilles malades est nulle au niveau des symptômes nécrotiques et peu affectée dans les parties vertes ; (ii) sa respiration peut atteindre trois fois celle d'une feuille saine ; (iii) sa sénescence apicale est fortement augmentée. Cependant, contrairement à ce qui est obtenu pour la photosynthèse, les données ne permettent pas d'établir de relations robustes entre d'une part symptômes et sénescence induite et d'autre part symptômes et augmentation de respiration. Des expérimentations complémentaires plus délicates seraient donc nécessaires.

Avant de mettre en place ces expérimentations, il nous a semblé judicieux de hiérarchiser chacun de ces dommages (photosynthèse, respiration et sénescence) dans la perte de biomasse due à une épidémie de septoriose (en utilisant le paramétrage obtenu dans les expérimentations en serre). Pour cela, on a construit cinq modèles qui tous simulent l'accumulation de biomasse par une feuille soumise à une épidémie de septoriose mais qui diffèrent par le fait qu'ils prennent en compte ou non la baisse de photosynthèse, l'augmentation de respiration et celle de sénescence apicale. La comparaison des prédictions de ces modèles montre qu'il est essentiel de prendre en compte l'accélération de sénescence et la baisse de photosynthèse dans un modèle de croissance de peuplement malade mais que l'effet sur la respiration est négligeable.

Ce travail de modélisation montre également qu'il n'est pas nécessaire de noter séparément les symptômes nécrotiques présentant des pycnides de ceux liés à la sénescence induite pour obtenir une bonne estimation des pertes de récolte. Ce travail illustre ainsi l'importance du choix d'un système de notation adapté à la question considérée. Cela suggère également que les variables clés des modèles épidémiques (symptômes sporulants) sont différentes de celle des modèles de couverts (symptômes nécrotiques). Le couplage d'un modèle du couvert avec un modèle épidémique nécessite donc la définition de nouvelles variables de couplage qui relient ces différentes variables clé.

Genetic analysis of *Septoria tritici* blotch to improve resistance in European wheat breeding programmes

L. S. Arraiano, J. K. M. Brown

Disease and Stress Biology Department, John Innes Centre, Norwich Research Park, Colney Lane, Norwich, NR4 7UH, UNITED KINGDOM

In Europe, the need to understand and use host plant resistance to septoria tritici blotch (STB) has assumed new urgency with the widespread development of resistance to QoI (strobilurin and related) fungicides in the STB pathogen, *Mycosphaerella graminicola*. We have investigated factors that contribute to reducing STB levels among wheat cultivars in field conditions, including resistance to specific isolates of *M. graminicola* and aspects of plant development and morphology that contribute to disease escape. This has allowed the identification of cultivars which are useful sources of isolate-non-specific, foliar resistance to STB for wheat breeding.

A total of 226 wheat genotypes were studied, including cultivars grown in the UK and other lines relevant to UK breeding programmes, including progenitors of current cultivars. Eleven field trials were carried out at eight sites over three years, in which STB and escape factors were scored. All 226 lines were screened with single isolates to identify the presence of specific resistance genes using the detached leaf technique (Arraiano *et al.* 2001b). A sub-set of 98 lines were scored with 121 microsatellite markers covering all 21 chromosomes.

At least two specific resistance genes were associated with significant reduction of STB in the set of wheat genotypes. One of these was the most important predictor of resistance other than height to flag leaf and heading date. The development of a model which combines escape factors (heading date, plant height and leaf spacing) with specific resistances that are correlated with disease levels has enabled us to detect cultivars with greater resistance to STB than the model predicts. These are likely to be new sources of STB resistance for wheat breeding programmes in the UK and elsewhere. Other regions of the genome that may contain hitherto unknown resistance genes were identified by linkage to microsatellite markers in an association genetic analysis.

This research is providing breeders with knowledge about the potential value of genes for resistance to STB and about previously unidentified sources of resistance within the pool of wheat germplasm adapted to UK conditions. This is expected to lead to improved selection of wheat varieties with resistance to STB and in due course, to a sustained, gradual improvement in the resistance of European wheat varieties to STB and thus to reduced need for fungicides to control this disease.

Acknowledgements: This research was done in collaboration with Advanta Seeds UK, Cebeco Seed Innovations, Elsoms Seeds, Nickerson, SW Seed and Syngenta Seeds through the Sustainable Arable LINK Programme.

Reference:

Arraiano LS, Brading PA, Brown JKM, 2001. A detached seedling leaf technique to study resistance to *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) in wheat. *Plant Pathology* 50: 339-346.

Remise en cause du potentiel de durabilité des résistances quantitatives à *Melampsora larici-populina* chez le peuplier hybride interaméricain

A. Dowkiw (1), V. Jorge (1), P. Faivre-Rampant (2), P. Frey (3), J. Pinon (3), C. Bastien (1)

(1) INRA Centre d'Orléans, Unité Amélioration Génétique et Physiologie Forestières, 2163 avenue de la Pomme de Pin, BP20619 Ardon, 45166 Olivet Cedex

(2) URGV, 2 rue Gaston Crémieux, CP 5708, 91057 Evry Cedex (3) INRA Centre de Nancy, Unité Interactions Arbres Microorganismes, Route de l'Arboretum, 54280 Champenoux

La sélection de peupliers hybrides à résistance qualitative à la rouille foliaire à *Melampsora larici-populina* (*Mlp*) a conduit à des impasses successives. La faible diversité des cultivars plantés et le mode de culture monoclonal n'ont fait qu'ajouter à l'intense pression de sélection qu'exerce ce type de résistance sur les populations pathogènes. Tendancé vers un objectif de durabilité, les améliorateurs se tournent désormais vers la résistance quantitative, supposée plus durable. Cependant, l'étude de ce caractère dans plusieurs pedigrees hybrides interaméricains (*Populus deltoides* x *P. trichocarpa*) vis-à-vis d'une palette de souches de *Mlp*, en conditions contrôlées de laboratoire et en pépinière, nous permet de remettre en cause plusieurs fondements de cette hypothèse de durabilité. Ainsi, il apparaît fréquemment que les déterminismes génétiques des résistances qualitatives et quantitatives ne sont pas statistiquement indépendants. Deux phénomènes peuvent expliquer cette observation : un effet pléiotropique (dit « résiduel ») des gènes de résistance qualitative contournés, ou une simple liaison génétique au sein de clusters. D'autre part, la cartographie de QTL contredit l'hypothèse généralement admise d'un déterminisme polygénique de ce type de résistance. Deux QTL majeurs ont été identifiés. L'un d'eux, R_{US} , peut réduire de 60% le niveau de sporulation en laboratoire et a un effet significatif en pépinière, mais nous avons déjà identifié une souche pathogène capable de le contourner. Un criblage de populations naturelles de *Mlp* sur hôtes discriminants R_{US}/r_{US} doit permettre d'identifier d'autres souches de ce type. Le clonage positionnel de R_{US} est en cours. Les pré-requis (banque BAC du géniteur *P. trichocarpa* porteur de R_{US} , cartographie fine et alignement avec la séquence du génome de *P. trichocarpa*) sont en cours d'acquisition et permettent déjà d'identifier des gènes candidats.

MARDI 17 JANVIER 2006 – APRES-MIDI

Session : INTERACTIONS MOLECULAIRES

Animateurs : Michel Chalot (Université de Nancy), Jean-Benoît Morel (INRA – UMR BGPI / Montpellier)

16h00 – 18h30 **PAUSE GOUTER et Sessions Posters : EPIDEMIOLOGIE ET INTERACTIONS MOLECULAIRES**

1 - Dialogue moléculaire

18h30 – 18h50 **Jérôme Collemare (CNRS – Bayer Cropscience / Lyon)**
A secondary metabolite is involved in recognition of the rice blast fungus

18h50 – 19h10 **Nadia Ponts (INRA / Bordeaux)**
Production *in vitro* de DON et de 15-ADON par *Fusarium graminearum* : cinétiques d'expression de gènes *Tri* en conditions de stress oxydatif

19h10 -19h30 **Aurélié Deveau (INRA / Nancy)**
Analyse des gènes impliqués dans les interactions entre le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* et une bactérie auxiliaire de la mycorrhization *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8

19h30 – 20h00 **Karl-Heinz Kogel (Université de Giessen / Allemagne)**
Molecular aspects of endophyte and parasite infections of crop plants

A secondary metabolite is involved in recognition of the rice blast fungus

J. Collemare (1), H. U. Böhnert (1), M. Pianfetti, I. Fudal (1), D. Tharreau (2), M.-H. Lebrun (1)

(1) UMR2847 CNRS-Bayer Cropscience, Physiologie des plantes et des champignons lors de l'infection, Bayer Cropscience, 14-20 rue P Baizet, 69263 Lyon Cedex 09

(2) CIRAD - UMR BGPI, Campus International de Baillarguet, TA41 / K, 34398 Montpellier Cedex 05

Recognition of the blast fungus *Magnaporthe grisea* by resistant rice cultivars frequently involves interaction between a fungal avirulence gene and a specific rice resistance gene, as observed for the avirulence gene *ACE1* that controls the production of a signal specifically recognized by rice cultivars carrying the resistance gene *Pi33*. *ACE1* encodes for a polyketide synthase fused to a non-ribosomal peptide synthetase, an enzyme involved in the biosynthesis of a microbial secondary metabolite. *ACE1* is specifically expressed in mature appressoria during penetration of the fungus into host plant leaves. The protein Ace1 is only detected in the cytoplasm of appressoria and does not seem to move into infectious hyphae produced inside host plant tissues. Deletion analysis of *ACE1* promoter has led to the identification of a 58-bp region required for its appressorium-specific transcription. This region contains putative binding sites for a *Ste12* transcription factor and a fungal binuclear zinc finger transcription factors. Site-directed mutagenesis of these putative binding sites will be used to assess their role in the control of *ACE1* expression. *Ace1-ks0*, a non-functional *ACE1* allele obtained by site-directed mutagenesis of an essential amino acid of the polyketide synthase KS domain, is unable to confer avirulence. This result suggests that the avirulence signal recognized by *Pi33* resistant rice is not the Ace1 protein, but is likely the secondary metabolite synthesized by Ace1. In order to characterize this metabolite, we have performed a metabolic profiling of *M. grisea* appressoria by LC-MS-MS, using appressoria from either virulent or avirulent isolates differentiated on onion epidermis. Fungal metabolites were detected but none was specific of avirulent isolate. Close to *ACE1*, we identified 15 genes predicted to encode enzymes involved in secondary metabolism, including two enoyl-reductases and a binuclear zinc-finger transcription factor. All these 15 genes are located within a region of 70-kb and display the same penetration-specific expression pattern as *ACE1*, defining a cluster of co-expressed genes. The inactivation of these genes in an avirulent isolate is underway to evaluate their role in the biosynthesis of the avirulence signal recognized by *Pi33* resistant rice cultivars.

Production in vitro de DON et de 15-ADON par *Fusarium graminearum* : cinétiques d'expression de gènes *Tri* en conditions de stress oxydatif

N. Ponts (1), C. Barreau (1), L. Harris (2), T. Ouellet (2), L. Pinson-Gadais (1), A. Saparno (2), F. Richard-Forget (1)

(1) INRA Centre de Bordeaux, UR1264 MycSA, 71 avenue Edouard Bourleaux, BP81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex (2) Agriculture and Agri-Food Canada, 960 avenue Carling, Ottawa (Ontario) K1A 0C6, CANADA

Les céréales et le maïs sont fréquemment contaminés par des trichothécènes B (TCTB), toxines fongiques produites par le microorganisme du genre *Fusarium*. La résistance de ces toxines à tous procédé de décontamination impose actuellement la prévention de leur biosynthèse au champ afin de limiter leur occurrence dans les denrées céréalieres.

Dans le cadre d'études des effets de la modification des paramètres oxydatifs du milieu sur la biosynthèse de TCTB, nous nous sommes intéressés à l'influence de l'ajout de H₂O₂ ou de catalase dans le milieu : H₂O₂ active la production de DON et de 15-ADON par la souche *F.graminearum* CBS185.32 tandis que l'ajout de catalase a pour effet de réduire cette production. Des cinétiques d'expression des gènes *Tri4*, *Tri5*, *Tri6*, *Tri10*, *Tri12* et *Tri101* – les gènes *Tri* sont les gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des trichothécènes – en présence ou absence de H₂O₂ ont été réalisées par RT-PCR en temps réel. Les niveaux d'expression de ces six gènes *Tri* ont également été étudiés en présence de catalase. Il apparaît que l'activation de la production de toxines en présence de H₂O₂ est associée à une augmentation de l'expression des gènes *Tri4*, *Tri5*, *Tri6* et *Tri12* tandis que l'inhibition de la production de toxines en présence de catalase est quant à elle associée à une inhibition de l'expression des gènes *Tri4*, *Tri5* et *Tri101*. La signification biologique des modulations observées est discutée.

Mots-clés : *Fusarium graminearum*, DON, H₂O₂, stress oxydatif, gènes *Tri*

Analyse des gènes impliqués dans les interactions entre le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* et une bactérie auxiliaire de la mycorhization *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8

A. Deveau, P. Frey-Klett, J. Garbaye, F. Martin

INRA - Nancy, Laboratoire Interactions Arbres Micro-organismes, UMR 1136, IFR 110, 54280 Champenoux

Notre connaissance des mécanismes régulant les interactions entre champignons ectomycorhiziens et leurs arbres hôtes a largement progressé au cours des dernières années. Toutefois, dans les sols forestiers, les champignons ectomycorhiziens interagissent également avec des bactéries rhizosphériques, dont certaines ont un effet positif sur la mycorhization (Garbaye, 1994). A l'heure actuelle, les mécanismes contrôlant ces interactions restent méconnus (Frey-Klett et Garbaye, 2005). Afin de caractériser ces mécanismes, un dispositif *in vitro* de confrontation entre le champignon *Laccaria bicolor* et la souche bactérienne auxiliaire de la mycorhization *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 a été mis au point. Dans ce système, la présence de la bactérie induit une augmentation de 50 % de la croissance du mycélium fongique après 15 jours d'incubation. Nous analysons dans ce dispositif les réseaux de gènes de *L. bicolor* régulés lors de l'interaction avec BBc6R8 en utilisant des membranes de nylon portant plus de 5000 ESTs.

Nous développons parallèlement une approche ciblée sur le métabolisme du tréhalose, un disaccharide fortement accumulé dans les hyphes de *L. bicolor* et pour lequel la souche bactérienne *P. fluorescens* BBc6R8 présente un fort tropisme. Dans le cadre de l'annotation du génome nouvellement séquencé de *L. bicolor* (Martin *et al.*, 2004), nous avons reconstitué *in silico* les voies métaboliques putatives de synthèse et de dégradation du tréhalose. *L. bicolor* possède potentiellement trois enzymes de dégradation (deux tréhalases et une tréhalose phosphorylase) et une voie complète de synthèse du tréhalose à partir du glucose. L'expression des gènes impliqués dans ces voies est maintenant analysée dans différentes conditions de culture et lors de la confrontation du mycélium fongique avec la souche bactérienne BBc6R8. Ces différentes approches méthodologiques devraient nous permettre de mieux comprendre les mécanismes régissant les interactions bactéries/champignons dans la rhizosphère.

Références :

- Frey-Klett P. et Garbaye J. (2005). Mycorrhiza Helper Bacteria : a promising model for the genomic analysis of fungal-bacterial interactions. *New Phytologist*. 168 : 4-9.
- Garbaye J. (1994). Helper Bacteria : a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 128 : 197-210.
- Martin F., Tuskan GA., DiFazio, L., Lammers P., Newcombe G., Podila G. (2004). Symbiotic sequencing for the Populus mezosystem : DOE tackles the genome of endomycorrhizal Glomus intraradices and ectomycorrhizal Laccaria bicolor. *New Phytologist*. 161 : 330-335.

Molecular aspects of endophyte and parasite infections of crop plants

C. Jansen (1), D. von Wettstein (2), W. Schäfer (3), **K.-H. Kogel** (1), A. Felk (3), F. J. Maier (3)

(1) Institute of Phytopathology and Applied Zoology, Justus-Liebig-University Giessen, Heinrich-Buff-Ring 26-32, D-35392 Giessen, ALLEMAGNE

(2) Department of Crop and Soil Sciences, School of Molecular Biosciences and Center for Integrated Biotechnology, Washington State University, Pullman, WA 99164-6420; USA

(3) Department of Molecular Phytopathology and Genetics, University of Hamburg, Biocenter Klein Flottbek, Ohnhorststrasse 18, D-22609 Hamburg, ALLEMAGNE

Fusarium head blight epidemics of wheat and barley cause heavy economic losses to farmers due to yield decreases and production of mycotoxin that renders the grain useless for flour and malt products. No highly resistant cultivars are available at present. Hyphae of germinating fungal spores use different paths of infection: After germination at the extruded tip of an ovary, the hyphae travel along the epicarp in the space between the lemma and palea. Infection of the developing kernel proceeds through the epicarp, successively destroying the layers of the fruit coat and finally the starch and protein accumulating endosperm. Hyphae reaching the rachis proceed to apically located developing kernels. Using a constitutively green fluorescence protein-expressing *Fusarium* wild-type strain, and its knockout mutant, preventing trichothecene synthesis, we demonstrate that trichothecenes are not a virulence factor during infection through the fruit coat. In the absence of trichothecenes, the fungus is blocked by the development of heavy cell wall thickenings in the rachis node of Nandu wheat, a defense inhibited by the mycotoxin. In barley hyphae of both wild-type and the trichothecene knockout mutant, are inhibited at the rachis node and rachilla, limiting infection of adjacent florets through the phloem and along the surface of the rachis. Effective resistance to *Fusarium* head blight requires expression of genes that combat these different pathways of infection.

MERCREDI 18 JANVIER 2006 – MATIN

Session : *INTERACTIONS MOLECULAIRES* (suite)

Animateurs : Michel Chalot (Université de Nancy), Jean-Benoît Morel (INRA – UMR BGPI / Montpellier)

2 - Processus d'infection

- 9h00 – 9h20** **Claire Veneault-Fourrey (School of Biosciences - University of Exeter / UK)**
Mitotic control and autophagic-programmed cell death are required for appressorium-mediated penetration in *Magnaporthe grisea*
- 9h20 – 9h40** **Estelle Rémy (INRA / Versailles)**
Recherche de facteurs de pathogénie chez *Leptosphaeria maculans* : caractérisation d'un mutant de pénétration obtenu par mutagenèse insertionnelle aléatoire
- 9h40 – 10h00** **Karine Lambou (CNRS – Bayer Cropscience / Lyon)**
Analyse fonctionnelle de la voie impliquant la tétraspanine Pls1 nécessaire au fonctionnement de l'appressorium du champignon pathogène du riz *Magnaporthe grisea*

3 - Réponse des plantes

- 10h00 – 10h20** **Mathilde Allègre (INRA – CNRS / Dijon)**
Modification du fonctionnement stomatique de la vigne par *Plasmopara viticola*
- 10h20 – 10h50** **PAUSE CAFE**
- 10h50 – 11h10** **Béatrice Randoux (Laboratoire de Mycologie-Phytopathologie-Environnement, Université du Littoral Côte d'Opale / Calais)**
Activités élicitrice et protectrice de substances d'origine naturelle lors d'une interaction compatible blé/*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*
- 11h10 – 11h30** **Marie-Pierre Rivière (UMR - IPMSV / Sophia Antipolis)**
Résistance acquise avec l'âge chez les plantes vis-à-vis des oomycètes. Etude des fonctions extracellulaires chez *Nicotiana tabacum*
- 11h30 – 11h50** **Anne-Lise Varnier (Laboratoire de Stress, Défenses et Reproduction des Plantes - Université de Reims / Reims)**
Analyse fonctionnelle de deux gènes de vigne de fonction inconnue régulés lors de l'infection par *Botrytis cinerea*
- 11h50 – 12h00** **Présentation de la Session Posters : *INTERACTIONS MOLECULAIRES***

Mitotic control and autophagic-programmed cell death are required for appressorium-mediated penetration in *Magnaporthe grisea*

C. Veneault-Fourrey and N. J. Talbot

School of Biosciences University of Exeter, Washington Singer Laboratories, Perry Road, Exeter, EX4 4QG, UNITED KINGDOM

The rice blast fungus *Magnaporthe grisea* elaborates a specialised infection structure called an appressorium in order to infect rice leaves. Previously, it was reported that mitosis occurs in the germ tube prior to appressorium development (1). However, little emphasis has been placed on investigating the importance of this event in appressorium morphogenesis. We have used both pharmacological and genetic approaches in order to block mitosis. We showed that mitosis is required for infection-related development to proceed in *Magnaporthe grisea*. Mitosis occurs in the germ tube and one of the two daughter nuclei migrates to the appressorium and the other into conidium. The conidium then collapses and nuclei degenerate. We have shown that the collapse of conidia occurs by a programmed autophagic (type II) cell death mechanism. Furthermore, our results showed that autophagy is required for pathogenicity.

Reference:

(1) Bourett and Howard, 1990, Can. J. Bot. 68, 329-342

Recherche de facteurs de pathogénie chez *Leptosphaeria maculans* : caractérisation d'un mutant de pénétration obtenu par mutagenèse insertionnelle aléatoire

E. Rémy, M. Meyer, F. Blaise, M.-H. Balesdent, J.-Paul Narcy, J. Roux, M. Chabirand, L. Coudard, T. Rouxel

Unité PMDV, INRA Centre de Versailles, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex

Leptosphaeria maculans, agent de la nécrose du collet des crucifères, est un pathogène majeur du colza. C'est un champignon exemplaire des stratégies d'infection des Dothidéomycètes, l'une des classes d'ascomycètes comportant le plus d'espèces de phytopathogènes fongiques aériens. Une collection de 3000 transformants obtenue par agrotransformation a récemment été générée et caractérisée au laboratoire. Ici, nous décrivons la caractérisation phénotypique et fonctionnelle d'un mutant typique de pénétration. Ce mutant, également affecté dans sa croissance *in vitro*, induit sur feuille de colza une réaction d'hypersensibilité et est incapable de coloniser la tige. Une analyse de génétique formelle menée sur quarante sept descendants démontre l'étiquetage du mutant, c'est-à-dire la co-ségrégation du marqueur de sélection avec le phénotype observé. Le séquençage de la région génomique où l'insertion de l'ADN-T de l'agrobactérie a eu lieu a permis de la localiser dans la région promotrice de deux gènes organisés en tête-bêche et organisés de façon identique chez l'espèce proche, *Stagonospora nodorum*. L'insertion s'accompagne d'une délétion de 100 pb de la région promotrice. Ces deux gènes, annotés précisément de façon expérimentale, codent pour des protéines de fonction(s) biologique(s) inconnue(s), mais présentant des domaines fonctionnels fortement conservés. Des expériences de complémentation fonctionnelle du mutant, par apport d'une copie sauvage de chacun des deux gènes séparément ou ensemble, ont prouvé qu'un seul des deux était effectivement responsable à la fois du défaut de pathogénie et de croissance. D'autre part, l'expression de ces deux gènes cibles a été vérifiée par RT-PCR classique dans différentes conditions *in vitro*, et également au cours de l'infection *in planta*. De façon étrange, on observe le maintien de leur expression chez le mutant. A présent, des études plus fines par RT-PCR quantitatives sont en cours, afin d'évaluer les niveaux d'expression des deux gènes chez le mutant, par rapport à la souche sauvage. Enfin, une analyse précise des transcrits mutants visera à identifier des modifications au niveau de la taille ou de la séquence du transcrit pour tenter d'expliquer les défauts phénotypiques observés.

Analyse fonctionnelle de la voie impliquant la tétraspanine Pls1 nécessaire au fonctionnement de l'appressorium du champignon pathogène du riz *Magnaporthe oryzae*

C. Fargeix, J. Catusse, F. Cottier, M. Gourgues, K. Lambou, M.-H. Lebrun

Laboratoire mixte CNRS/Bayer Cropscience- 14-20, rue Pierre Baizet - 69 263 Lyon Cedex 02

Magnaporthe oryzae est un champignon filamenteux ascomycète responsable de la pyriculariose du riz. Au cours des premières étapes de son cycle infectieux, ce champignon différencie une cellule spécialisée dans la pénétration, l'appressorium. Le gène *PLS1* code pour une tétraspanine s'exprimant uniquement dans l'appressorium et indispensable à la pénétration du champignon dans la plante. Ainsi, le mutant de délétion *pls1* Δ est non pathogène et il est incapable de pénétrer dans les tissus de la plante hôte. Les tétraspanines sont des petites protéines membranaires présentant une structure particulière constituée de 4 domaines transmembranaires, une petite boucle extracellulaire, une petite boucle intracellulaire et une grande boucle extracellulaire comportant 4 cystéines en des positions précises. Ces cystéines jouent un rôle crucial dans la conformation de cette boucle. Des gènes orthologues de *PLS1* ont été identifiés chez les ascomycètes tels que *Neurospora crassa*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Podospora anserina*, *Coccidioide immitis*, *Fusarium graminearum*, *Stagnospora nodorum*, *Chaetomium globosum*, *Trichoderma reesei*, et *Phaeosphaeria nodorum*, mais pas chez les *Aspergilli*. Chez *B. cinerea* et chez *C. lindemuthianum*, les orthologues de *PLS1* sont également nécessaires au fonctionnement de l'appressorium lors de la pénétration du champignon dans la plante. Chez les animaux, les tétraspanines jouent un rôle de stabilisateur de complexes membranaires impliqués dans des voies de signalisation et sont localisées dans les microdomaines (radeaux lipidiques). Afin d'identifier les fonctions contrôlées par Pls1 chez *M. oryzae*, nous avons comparé les profils d'expression de la souche sauvage P1.2 et du mutant *pls1* Δ à différents stades du développement appressorial en utilisant des puces à oligonucléotides (puces Agilent) comportant tous les gènes de *M. oryzae*. Nous avons pu identifier 618 gènes différentiellement exprimés au niveau des appressoria du mutant Δ *pls1*. Ces données d'expression ont été validées par PCR quantitative pour un échantillon de 28 gènes. La majorité de ces gènes sont sur-exprimés et semblent correspondre à une réponse de la cellule aux perturbations engendrées par cette mutation. Les gènes sous-exprimés chez le mutant *pls1* Δ pourraient être impliqués dans la voie contrôlée par Pls1. La délétion de certains gènes sous-exprimés est en cours afin de valider cette hypothèse.

Modification du fonctionnement stomatique de la vigne par *Plasmopara viticola*

M. Allègre, X. Daire, M.-C. Héloir, M. Adrian, A. Pugin

UMR Université de Bourgogne-INRA-CNRS Plante Microbe Environnement. 17, rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon Cedex

Le mildiou occasionne des dégâts importants au vignoble, le traitement contre cette maladie consiste en l'application répétée de fongicides au cours du développement de la vigne. Pour améliorer la lutte contre cet agent pathogène, il est nécessaire de progresser dans la compréhension de l'interaction entre la plante et le pathogène.

Plasmopara viticola Berl. et De Toni (*Pv*), l'agent responsable du mildiou de la vigne, est un oomycète biotrophe obligatoire qui se développe de manière intercellulaire, puisant les nutriments nécessaires à sa croissance grâce à la formation d'haustoria.

Les stomates constituent à la fois la porte d'entrée du pathogène dans la plante et le lieu d'émergence des sporangiophores au moment de la sporulation.

Compte tenu du rôle clé des stomates dans le cycle de *Pv*, nous nous sommes focalisés sur le fonctionnement de cet organe chez la plante infectée, d'autant que certains arguments expérimentaux suggèrent que les cellules de garde pourraient être spécialisées dans la défense contre ce type d'agent pathogène.

Nos premiers résultats, obtenus par mesure de la conductance stomatique (porométrie), indiquent que le fonctionnement des stomates est altéré dans les zones colonisées. Les mesures de conductance stomatique pratiquées à l'obscurité montrent une augmentation anormale de l'ouverture des stomates chez la plante infectée dès 3 jours après inoculation, avant l'apparition des premiers symptômes visibles. Ainsi, lorsque le tissu foliaire est colonisé par *Pv*, les stomates sont bloqués en position ouverte, même à l'obscurité.

La dérégulation des stomates lors de l'infection par des oomycètes est un phénomène peu décrit dans la littérature et qui, selon nous, était inconnu dans le cas de l'interaction vigne-mildiou. Parmi les hypothèses qui peuvent expliquer ce phénomène, nous commençons à explorer celle d'une interférence du pathogène, ou de ses produits, avec les voies de signalisation de l'ABA.

Activités élicitrice et protectrice de substances d'origine naturelle lors d'une interaction compatible blé/*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*

B. Randoux (1,2), D. Renard (1), P. Reignault (1), J. Sanssené (2), E. Nowack (3), J. Courtois (4), R. Durand (1)

(1) Laboratoire de Mycologie-Phytopathologie-Environnement, Université du Littoral Côte d'Opale, 17 Avenue Blériot, BP 699, 62228 Calais Cedex

(2) Institut Supérieur d'Agriculture de Beauvais, rue P. Wagué, BP 30313, 60026 Beauvais Cedex

(3) Laboratoire d'Informatique et de Statistiques, Institut Supérieur d'Agriculture de Lille, 48 boulevard Vauban, 59046 Lille Cedex

(4) Laboratoire des Glucides/Laboratoire des Polysaccharides Microbiens et Végétaux, CNRS FRE 2779, Université de Picardie Jules Verne, IUT/GB, Avenue des Facultés/Le Bailly, 80025 Amiens Cedex 1

Lors d'une interaction compatible entre une plante et un agent pathogène débouchant sur l'établissement de la maladie, les réactions de défenses de la plante sont insuffisantes pour enrayer le développement du pathogène. L'utilisation de fongicides est donc nécessaire pour empêcher l'installation de l'épidémie. Mais les répercussions des fongicides sur l'environnement et les résistances qui se développent chez les pathogènes amènent à rechercher des méthodes alternatives de lutte. De nouvelles molécules d'origine naturelle sont ainsi testées pour leur capacité à induire une résistance chez la plante par le biais d'une élicitation de ses réactions de défenses.

Chez le blé, l'oïdium est dû à un champignon ascomycète biotrophe, *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. Ce champignon se développe sur les parties aériennes de la plante et cause des pertes importantes de rendement. Nous avons testé sur ce pathosystème le potentiel éliciteur et protecteur de différentes molécules ou substances d'origine naturelle : le chitosan, le Iodus 40® (laminarine, extrait d'algue brune), le Milsana® (extrait éthanolique de *Reynoutria sachalinensis*), le tréhalose et le salicylyl heptanoate (ester d'acide heptanoïque et d'acide salicylique).

Nous avons tout d'abord évalué leur effet protecteur respectif, en employant différentes méthodes de traitement.

Puis, pour rechercher un éventuel effet éliciteur, nous avons procédé à une analyse biochimique des modifications intervenant au niveau de deux voies métaboliques chez la plante : la synthèse de formes activées de l'oxygène et le métabolisme lipidique.

Lors d'une élicitation, une des premières réponses de la plante consiste en une "vague oxydative", qui correspond à la synthèse de formes activées de l'oxygène. L'activité de différentes enzymes intervenant dans cette voie métabolique a été mesurée après traitement des plantes par ces substances : activités oxalate oxydase, catalase, superoxyde dismutase, peroxydase.

Nous nous sommes également intéressés aux modifications lipidiques survenant après élicitation, en particulier à l'activité lipoxygénase et au taux de lipides peroxydés.

Ces dosages ont mis en évidence l'existence de modes d'action différents pour les substances testées. Ces différences ont été confirmées au niveau cytologique : au contact de l'agent pathogène, les plantules traitées ne réagissent pas de la même façon, ce que nous avons constaté par des observations microscopiques.

Nous présenterons nos conclusions et hypothèses quant à l'efficacité élicitrice et protectrice des diverses substances utilisées.

Résistance acquise avec l'âge chez les plantes vis-à-vis des oomycètes. Etude des fonctions extracellulaires chez *Nicotiana tabacum*

M.-P. Rivière, A. Marais, G. Arbiol, C. Etienne, E. Galiana

UMR INRA-UNSA-CNRS IPMSV, 400 route des Chappes, PB 167, 06903 Sophia Antipolis Cedex

La résistance acquise avec l'âge des plantes, ou ARR pour Age-Related Resistance, met en jeu des mécanismes de l'espace intercellulaire. Chez *Nicotiana tabacum* lors de l'infection par *Phytophthora parasitica*, ils conduisent à l'activation d'une forme de mort cellulaire des zoospores (Galiana *et al.*, 2005, Cell Microbiol. 7:1365-78). Afin de caractériser ces mécanismes, nous avons screené le génome du tabac pour les gènes de sécrétion (Hugot *et al.*, 2004, Plant Physiol. 134:858-70). Nous avons ainsi identifié un groupe de gènes spécifiquement activés dans des feuilles exprimant la résistance parmi lesquels des gènes codant des protéines de défense (PR-1a et PR-2, pour Pathogenesis Related) et des protéines impliquées dans des modifications pariétales (TLRP, pour Tyrosine- and Lysine Rich Protein, et LFP, pour Lignin Forming Peroxidase). La fonction de ces gènes est étudiée d'une part par PTGS, d'autre part par détermination de l'activité antimicrobienne des protéines recombinantes correspondantes. En ce qui concerne PR-1a, nous avons confirmé son activité anti-oomycète qui se manifeste *in vitro* par une inhibition de la croissance mycélienne. *In planta*, le silencing constitutif de *PR-1a*, à la fois très efficace (réduction de l'accumulation extracellulaire de PR-1a > 90%) et spécifique (vis-à-vis des gènes codant les PR-1 acides), n'entraîne pas de modifications mesurables dans l'expression de l'ARR, ni de la SAR (Systemic Acquired Resistance). Parallèlement, ce silencing s'accompagne d'une sur-abondance des ARMm correspondant à des gènes codant les PR1 basiques. Ces résultats indiquent que PR-1a n'est pas requise pour l'expression de l'ARR. Ils suggèrent une redondance fonctionnelle entre certains membres de la famille PR-1 qui masquerait l'impact du silencing de *PR-1a* sur l'expression de l'ARR et de la SAR.

Analyse fonctionnelle de deux gènes de vigne de fonction inconnue régulés lors de l'infection par *Botrytis cinerea*

A.-L. Varnier, S. Paquis, F. Mazeyrat-Gourbeyre, S. Dorey, S. Dhondt-Cordelier, C. Clément, F. Baillieul

Laboratoire de Stress, Défenses et Reproduction des Plantes, URVVC EA 2069, Université de Reims, BP1039, 51687 Reims Cedex 2

Des gènes de vigne spécifiquement régulés lors de l'infection de feuilles de vitroplants par *Botrytis cinerea* ont été isolés par une approche de differential display et de banque soustractive. Deux gènes pour lesquels l'analyse de séquence dans les banques de données n'a pas permis de leur associer de fonction ont été sélectionnés : *BIG17.3* et *BIG102* (« *Botrytis*-Induced Grapevine genes »). Afin d'obtenir des informations indirectes sur leur fonction, la régulation de l'expression de ces deux gènes dans différentes conditions de stress a été étudiée. Nous avons montré que leur expression varie en réponse aux UV-C, à l'attaque par *Pseudomonas syringae pv pisi* et suite à l'application de molécules signal telles que l'acide salicylique ou le méthyl jasmonate. Pour compléter les données concernant cette régulation d'expression, le promoteur de chacun de ces gènes a été cloné.

La régulation, chez *Arabidopsis thaliana*, des gènes orthologues de *BIG17.3* et *BIG102* (nommés *At17.3* et *At102* respectivement) a également été étudiée. Comme chez la vigne, leur expression est régulée par l'infection par *Botrytis*, par un traitement aux UV-C, et par l'application d'acide salicylique. Pour progresser dans l'analyse fonctionnelle, l'inactivation des gènes est une méthode de choix. En ce qui concerne *At102*, des mutants sont disponibles et sont en cours d'analyse. Il n'existe pas, jusqu'alors, de mutant pour *At17.3*, une approche RNAi ou une stratégie antisens pourront être envisagées.

MERCREDI 18 JANVIER 2006 – APRES-MIDI

Session : INTERACTIONS MOLECULAIRES (suite)

Animateurs : Michel Chalot (Université de Nancy), Jean-Benoît Morel (INRA – UMR BGPI / Montpellier)

16h00 – 18h00 **PAUSE GOUTER et Session Posters : INTERACTIONS MOLECULAIRES**

3 - Réponse des plantes (suite)

18h00 – 18h20 **Odile Faivre-Rampant (Cirad / Montpellier)**
Oryza sativa/Magnaporthe grisea: a model system for non-host interaction in cereals

18h20 – 18h40 **Cécile Rinaldi (INRA / Nancy)**
Analyse du transcriptome de feuilles de peuplier infectées par *Melampsora larici-populina*, l'agent de la rouille foliaire

4 - Métabolisme fongique

18h40 – 19h00 **Pascale Cotton (Université Claude Bernard / Lyon)**
Dialogue métabolique au cours de la pathogénèse nécrotrophe

19h00 – 19h20 **Julie Bailly (CNRS / Villeurbanne)**
Expression de gènes fongiques et végétaux de la voie d'assimilation de l'azote lors de la symbiose ectomycorhizienne

19h20 – 19h40 **Eva Lucic (INRA / Nancy)**
Tolérance au sodium du champignon ectomycorhizien *Hebeloma cylindrosporum* : rôle du gène SNA1

20h30 – DINER

21h30 – 22h30 **Table ronde "Génomes fongiques"**
Animateur : Marc-Henri Lebrun (CNRS – Bayer Cropscience / Lyon)

DK530642

Oryza sativa/Magnaporthe grisea: a model system for non-host interaction in cereals

O. Faivre-Rampant (1), J. Thomas, A. Bily (1), M. Allègre (1), D. Tharreau (1), J.-B. Morel (1), J.-L. Nottéghem (1), M.-H. Lebrun, E. Guiderdoni (2), P. Piffanell (1)

(1) CIRAD-ENSAM-INRA - UMR BGPI, TA41 / K, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5

(2) CIRAD, UMR PIA, TA40 / 03, Avenue Agropolis, 34398 Montpellier Cedex 5

Resistance shown by a plant species to the majority of potentially pathogenic microbes is known as non-host resistance. The events leading to non-host resistance in plants represents one of the least understood phenomena and a remaining challenge in the field of plant-microbe interactions. Non-host resistance also represents one of the most promising defence mechanisms in developing durable resistance against plant pathogens, namely due to its effectiveness against a broad range of pathogen species and its durability in nature compared to race-specific R gene-dependent resistance. Rice-*Magnaporthe grisea* is a model pathosystem for race-specific cereal disease resistance study. At the species level, *Magnaporthe grisea* attack more than 50 monocots. However, at the strain level, this fungus exhibits a narrow host spectrum. We developed a biological model using rice cultivars and several non-host *M. grisea* strains (pathogenic on barley and wheat) to elucidate mechanisms implicated in non-host interaction. Cytological analysis helped us to pinpoint where the fungus is blocked in rice-*M. grisea* non-host interactions. We analysed defence gene expression using real-time quantitative PCR in the different non-host interactions. A reverse genetic strategy is underway to target rice T-DNA insertion mutants (Génoplante, France) that could be potentially affected in non-host resistance. It is expected that this model will shed some light into the genetic basis of non-host resistance defining the signalling and effectors components involved in these phenomena in rice and applicable to other cereal species.

Analyse du transcriptome de feuilles de peuplier infectées par *Melampsora larici-populina*, l'agent de la rouille foliaire

C. Rinaldi (1), A. Kohler (1), P. Frey (1), N. Ningre (2), D. Le Thiec (2), A. Couloux (3), P. Wincker (3), F. Martin (1), S. Duplessis (1)

(1) UMR 1136 IaM, Centre INRA de Nancy, 54280 Champenoux

(2) UMR 1137 EEF, Centre INRA de Nancy, 54280 Champenoux

(3) Génomscope, Centre National de Séquençage, BP 191, 91006 Evry Cedex

La rouille foliaire du peuplier causée par le basidiomycète *Melampsora larici-populina*, entraîne de fortes pertes de rendement dans les peupleraies européennes et à l'heure actuelle, il n'existe plus aucun cultivar de peuplier résistant à cette maladie. Afin d'étudier les mécanismes de défense mis en place chez le peuplier face à la rouille, nous avons choisi de procéder à une analyse d'expression génique par des approches globales (réseaux d'ADNc et banque soustraite par SSH). Le pathosystème défini pour l'hybride interaméricain, *Populus trichocarpa* x *Populus deltoides* 'Beaupré' nous permet de réaliser l'analyse comparative des interactions compatible et incompatible, induites respectivement par les isolats 93ID6 (pathotype 3-4) et 98AG31 (pathotype 3-4-7) de *M. larici-populina*. Le développement des deux isolats de *M. larici-populina*, ainsi que la production de monomères de lignines et d'espèces actives de l'oxygène aux sites d'infection ont par ailleurs été suivis dans les feuilles de 'Beaupré' par des approches histologiques. Nous avons pu observer une différence de croissance significative entre les deux isolats de *M. larici-populina* après 24 h post-inoculation (hpi) et une importante lignification des tissus est observée autour des sites d'infection lors de l'interaction incompatible après 48 hpi. La production d'espèces actives de l'oxygène n'a pas pu être mise en évidence dans l'une ou l'autre des interactions. A partir de réseaux d'ADNc portant près de 4600 ESTs de 'Beaupré', nous avons pu isoler un groupe de 435 ESTs (correspondant à 312 gènes uniques) dont l'expression est significativement régulée lors de l'interaction entre 'Beaupré' et *M. larici-populina*. Nous mettons en évidence la régulation de l'expression de nombreux gènes à 48 hpi, particulièrement lors de l'interaction incompatible. Ces gènes codent notamment des protéines PR (Pathogenesis-related ; PR1, PR2, PR5 et PR-10) et des enzymes des voies de biosynthèse des lignines (caffeoyle-CoA-O-méthyl transférase, cinnamyle-CoA réductase). A partir d'un réseau d'ADNc portant 12000 ESTs de 'Beaupré', nous avons pu étendre le catalogue des gènes stimulés à 48 hpi dans les deux types d'interaction. Les niveaux de régulation des gènes les plus fortement stimulés dans le cadre des deux types d'interaction ont été vérifiés par RT-PCR quantitative. De plus, la construction d'une banque d'ADNc enrichie en transcrits exprimés lors de l'interaction incompatible (SSH) nous a permis de confirmer les résultats obtenus par l'approche transcriptome, et d'identifier de nouveaux marqueurs spécifiques de l'interaction incompatible entre le peuplier et *M. larici-populina*. Plus particulièrement, nous mettons en évidence la forte accumulation de transcrits correspondant à une inositol-3-phosphate synthase lors de l'interaction incompatible. Le catalogue des gènes ainsi établi dans le cadre de l'analyse de la résistance qualitative à la rouille foliaire nous sert actuellement à mieux définir les bases moléculaires de la résistance quantitative dans le contexte de sélection de nouveaux cultivars de peuplier présentant une résistance générale aux rouilles.

Dialogue métabolique au cours de la pathogénèse nécrotrophe

T. Dulermo (1), V. Duclos (1), C. Jobic (1), C. Rasclé (1), R. Bligny (2), P. Cotton (1)

(1) Laboratoire de Biologie Cellulaire Fongique, Université Claude Bernard LYON 1, UMR 5122 Microbiologie et Génétique, 10 rue DUBOIS 32322 Villeurbanne Cedex

(2) Laboratoire de Physiologie Cellulaire Végétale, UMR 5168, CEA-Grenoble, 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble Cedex 9

Si la capacité d'invasion des pathogènes dépend de leur habileté à pénétrer les plantes grâce à la production de facteurs de virulence, le succès de l'infection repose également sur l'utilisation optimale des ressources nutritionnelles de l'hôte. Notre étude porte sur l'analyse du dialogue métabolique établi entre les plantes hôte (modèle cotylédon de tournesol) et des champignons pathogènes nécrotrophes : *Sclerotinia sclerotiorum* et *Botrytis cinerea*. Grâce à la spectroscopie RMN, nous avons dressé les profils métaboliques des partenaires de l'infection et de l'interaction plante/champignon. L'analyse globale des spectres ^{31}P et ^{13}C révèle la disparition des sucres simples (glucose, fructose, saccharose) et des acides aminés (glutamate, alanine, proline, valine) d'origine végétale. Les analyses de cotylédons de tournesol infectés par *S. sclerotiorum* révèlent un intense catabolisme membranaire probablement lié au processus d'autolyse du système membranaire de l'hôte. Le contenu en sucres et en acide aminés des tissus végétaux non envahis et situés en amont du point d'infection est également affecté, ce qui suggère que le champignon draine à distance les nutriments de la plante. Afin que les sucres d'origine végétale puissent être activement captés par le pathogène fongique, le champignon doit posséder les éléments de transport adaptés. Nous avons caractérisé deux transporteurs d'hexose *Sshxt1* et *Sshxt2* chez *S. sclerotiorum* et analysé leur expression *in vitro* et *in planta* par PCR quantitative. Les profils d'expression de ces deux gènes diffèrent et traduisent des mécanismes de régulation différents. Nos résultats suggèrent également qu'un système de transport multiple soit impliqué dans le transport des hexoses.

Au cours de l'infection, le profil des métabolites spécifiques du pathogène fongique évolue également. Ainsi, le pool des polyols et des sucres de réserve est remodelé et se caractérise par l'accumulation d'un polyol spécifique, le glycérol chez *S. sclerotiorum* alors que chez *B. cinerea*, nos analyses révèlent la présence de mannitol comme unique polyol détecté au stade final de l'infection. L'accumulation de ces polyols pourrait être liée à la réponse au stress, à la turgescence nécessaire à la pénétration du pathogène ou encore, avoir été une étape métabolique. Actuellement, nos travaux visent plus précisément à évaluer le rôle du mannitol dans le développement et la pathogénèse de *B. cinerea*. En effet, au stade final de macération des cotylédons de tournesol, le mannitol représente 50 % du pool de sucres présents. Nos perspectives consistent à caractériser la voie de biosynthèse du mannitol à et à évaluer son impact sur la pathogénèse de *B. cinerea*.

Expression de gènes fongiques et végétaux de la voie d'assimilation de l'azote lors de la symbiose ectomycorhizienne

J. Bailly, L. Fraissinet-Tachet, J.-C. Debaud, R. Marmeisse

Laboratoire d'Ecologie Microbienne-UMR CNRS 5557, Equipe Symbiose Mycorhizienne Université Claude Bernard Lyon 1, 43 Bd du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex

De nombreux microorganismes eucaryotes, dont de très nombreuses espèces fongiques, colonisent les sols dans lesquels ils remplissent des fonctions essentielles. Une des fonctions des symbiotes fongiques ectomycorhiziens est d'améliorer la nutrition hydrominérale de leurs plantes hôtes. Ces espèces fongiques diffèrent par leurs capacités d'assimilation des composés organiques du sol, notamment des sources azotées. Ainsi, il apparaît nécessaire d'analyser l'expression de leurs voies métaboliques *in situ* (dans les sols forestiers) et comment celles-ci s'ajustent aux variations spatio-temporelles des éléments nutritifs. Des études préalables ont conduit à la caractérisation structurale et fonctionnelle des voies métaboliques de chaque partenaire. Nous avons choisi d'étudier en priorité la voie d'assimilation du nitrate, voie métabolique commune à la plante et au champignon en prenant comme modèle le couple *Pinus pinaster/Hebeloma cylindrosporum*.

Nous avons d'abord mis au point une méthode d'extraction des ARN à partir de mycorhizes obtenues en microcosmes sur des sols provenant du terrain et aussi à partir du mycélium extraracinaire ayant colonisé ces sols. Nous avons ensuite développé une méthode de mesure des niveaux d'expression de gènes cibles au sein de ces échantillons par RT-PCR quantitative à l'aide d'amorces spécifiques. Ce travail est focalisé sur les nitrites réductases fongique et végétale, enzymes clés de la voie d'assimilation du nitrate, et sur un transporteur fongique d'ammonium. Les niveaux d'expression de chacun de ces gènes ont été mesurés dans les mycorhizes et dans le mycélium extramatriciel extrait du sol et comparés avec ceux obtenus dans des racines non mycorhizées.

Le niveau de transcription de chacun des gènes étudiés permet d'apprécier d'une part la biodisponibilité des formes inorganiques de l'azote du sol et d'autre part d'apprécier la capacité des mycéliums et des extrémités racinaires à assimiler les substrats correspondants. Ceci permet de préciser l'impact de la mycorhization sur une même fonction existant chez chacun des deux partenaires.

Tolérance au sodium du champignon ectomycorhizien *Hebeloma cylindrosporum* : rôle du gène *SNA1*

E. Lucic, A. Brun, D. Blaudez, M. Chalot

UMR INRA/UHP 1136 Interactions Arbres-Microorganismes. Faculté des Sciences, Université Henri Poincaré Nancy I, 54506 Vandoeuvre-les-Nancy

Environ 7% des terres du globe sont affectées par un excès de salinité. En France, les problèmes de salinité se produisent notamment sur les dunes des littoraux. Les plantes se développant dans ces zones, dont le pin maritime, doivent faire face à cette toxicité. En plus des mécanismes cellulaires propres aux cellules végétales, il a été démontré que l'association ectomycorhizienne pouvait également permettre à la plante de mieux se développer sous stress salin par rapport à des plantes non mycorhizées. Parmi différents symbiotes du pin, et en effectuant différents tests de tolérance *in vitro*, nous avons mis en évidence que *Laccaria laccata* et *Hebeloma cylindrosporum* étaient plus résistants au stress salin que d'autres champignons, dont *Paxillus involutus*. Afin de déterminer les origines de cette différence de sensibilité au sodium, nous avons entrepris de rechercher par une approche ciblée les déterminants moléculaires correspondants. Parmi les gènes d'intérêt, notre attention s'est portée sur *HcSNA1* isolé à partir d'une banque d'ESTs et par RACE-PCR. *HcSNA1* code un petit polypeptide de 58 acides aminés, possède deux domaines trans-membranaires et présente une homologie de séquence forte avec des gènes de nombreuses espèces végétales, et dont l'expression est induite par des stress abiotiques tels que le froid, la sécheresse et la salinité. En utilisant différentes souches mutantes de levure, nous avons montré que *HcSNA1* permet de compléter fonctionnellement la délétion du gène homologue *PMP3* de la levure. La surexpression de ce gène permet aux cellules de levure de tolérer de fortes concentrations de sodium, ainsi que des stress issus de cations monovalents toxiques. Une construction *SNA1-GFP* a été exprimée dans les cellules de levure et a permis de montrer que le produit du gène était localisé au niveau de la membrane plasmique. L'expression de ce gène au cours d'un stress salin a été étudiée par RT-PCR et les résultats obtenus suggèrent que ce gène est faiblement régulé au niveau transcriptionnel. Des résultats similaires ont été publiés concernant *ScPMP3*, démontrant que, bien qu'ayant des fonctions identiques, une régulation différentielle est évidente entre les gènes d'origine fongique et végétale lors d'un stress salin.

JEUDI 19 JANVIER 2006 – MATIN

Session : GENOMIQUE DES CHAMPIGNONS

Animateur : Marc-Henri Lebrun (CNRS – Bayer Cropscience / Lyon), Francis Martin (INRA / Nancy)

- 8h30 – 8h55** **Fabienne Malagnac (IGM / Orsay)**
Le projet de séquence du génome de *Podospora anserina*
- 8h55 – 9h20** **Gilles Fisher (Institut Pasteur, Génoleuvre / Paris)**
Evolutionary remodeling of chromosomes maps in yeasts
- 9h20– 9h45** **Cécile Neuvéglise (INRA / Grignon)**
Génomique de la levure *Yarrowia* et évolution des transposons
- 9h45 – 10h10** **Pietro Spanu (Imperial College / UK)**
Microarray analysis of the transcriptome of *Blumeria graminis*, the obligate biotrophic pathogen of barley
- 10h10 – 10h25** **Francis Martin (INRA / Nancy)**
The genome sequence of the symbiotic fungus *Laccaria bicolor*
- 10h25 – 10h55** **PAUSE CAFE**
- 10h55 – 11h10** **Marc-Henri Lebrun (CNRS – Bayer Cropscience / Lyon)**
Génomique comparée des champignons et pathogénicité pour les plantes
- 11h10 – 11h25** **Isabelle Fudal (INRA / Versailles)**
Effet de la structure en isochores du génome de *Leptosphaeria maculans* sur la distribution des gènes impliqués dans l'interaction avec la plante hôte
- 11h25 – 11h40** **Joëlle Amselem (INRA / Versailles-Grignon)**
Annotation structurale et fonctionnelle du génome de *Botrytis cinerea*
- 11h40 – 12h00** **Clôture par le comité d'organisation et le Président de la S.F.P.**

Le projet de séquence du génome de *Podospora anserina*

P. Silar (1), P. Wincker (2), **F. Malagnac** (1), E. Espagne (1), A. Boivin (3), O. Lespinet (1), A. Khalili (1), R. Debuchy (1), S. Arnaise (1), V. Berteaux-Lecellier (1), C. Clave (4), V. Contamine (1), E. Coppin (1), A. Couloux (2), C. Dasilva (2), F. Debets (5), M. Dequard-Chablat (1), R. Hoekstra (5), M. Picard (1), B. Pinan-Lucarre (4), A. Sainsart-Chanet (3), S. Saupe (4), C. H. Sellem (3), J. Weissenbach (2)

(1) Institut de Genetique et Microbiologie, UMR8621, Orsay

(2) Genoscope, Evry

(3) Centre de Genetique Moleculaire, UPR2167, Gif sur Yvette

(4) Institut de Biochimie et Genetique Cellulaires, UMR5095, Bordeaux

(5) Laboratory of Genetics, Wageningen University, Wageningen, THE NETHERLANDS

Le pyrénomycète filamenteux *Podospora anserina* est utilisé dans plusieurs laboratoires pour étudier des problèmes de biologie générale (vieillesse, différenciation, prions, transduction du signal...) mais aussi des phénomènes plus spécifiques aux champignons (reproduction sexuée, germination des spores, spore killer, incompatibilité végétative...). Du fait de son intérêt pour la recherche fondamentale, les équipes travaillant sur cet organisme en collaboration avec le Génoscope ont établi sa séquence génomique avec une couverture 10X. L'assemblage actuel est constitué de 1891 contigs regroupés en 192 supercontigs. Néanmoins, 36 supercontigs représentent 98% du génome. Ils sont en totalité indexés sur la carte génétique. L'assemblage indique une taille totale du génome de 36 Mb. L'annotation est faite grâce à la disponibilité de nombreux EST générés par le Genoscope et par comparaison avec les génomes de *Neurospora crassa* et *Chaetomium globosum*, deux espèces proches. Actuellement, une vérification experte des prédictions de gène est en cours.

Evolutionary remodeling of chromosomes maps in yeasts

G. Fischer

Unité de Génétique Moléculaire des Levures, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15

The Génolevures I program represented the first attempt to explore the genetic diversity present within a whole class of eukaryotes, the hemiascomycetous yeasts (Souciet et al., FEBS Letters, 2000). The second phase of the Génolevures program led to the release of 4 complete genome sequences of species covering the entire evolutionary range present within this group (Dujon et al., Nature, 2004). Presently, the (nearly) complete genome sequences of about two dozen yeast species have been reported, allowing the development of powerful comparative approaches to decipher the mechanisms of genome evolution. The level of genetic diversity spanned by these species is often unsuspected. For instance, the average protein divergence of more than 50% found between *Saccharomyces cerevisiae* and *Yarrowia lipolytica*, an alkane-using yeast, reveals that Hemiascomycetes are molecularly as diverse as the entire phylum of chordate. We used the complete (or nearly complete) genome sequences of 11 yeast species covering the entire clade to quantify the rates of gene order changes in the different branches of the Hemiascomycete tree. We also identified all inversion events that occurred within synteny blocks conserved between pairwise comparisons of 6 fully sequenced genomes corresponding to representative species from the different lineages. We showed that the rates of macro- and microrearrangements of gene order are correlated within individual lineages but are highly variable across the different lineages. The most unstable genomes correspond to yeasts adapted to a particular host, like pathogens, followed by the ones that have inherited a whole genome duplication event. We found a tremendous level of chromosomal reorganization outside of the *Saccharomyces* (sensu stricto) species. Chromosomal maps have been intensively shuffled by numerous interchromosomal rearrangements, even between species that have retained a very high physical fraction of their genomes within small synteny blocks. Despite this intensive reshuffling of gene positions, essential genes, which cluster in low recombination regions in the genome of *S. cerevisiae*, tend to remain adjacent during evolution, indicating selective constraints onto gene order preservation. This work suggests that these constraints might be alleviated by increased genome redundancy and decreased effective population sizes.

***Yarrowia lipolytica*, une levure modèle pour l'étude des transposons**

C. Neuvéglise, C. Ozanne, C. Gaillardin, S. Casaregola

INRA, INA-PG, CNRS, Laboratoire de Microbiologie et Génétique Moléculaire, BP01, 78850 Thiverval-Grignon

Y. lipolytica est une levure hémiascomycète dimorphique, non-pathogène, utilisée en agro-alimentaire et en biotechnologie pour ses capacités à pousser sur acides gras et alcanes et ses aptitudes à produire des métabolites et des protéines hétérologues. Majoritairement haploïde hétérothallique, mais faiblement fertile, elle se propage dans la nature principalement de façon clonale, ce qui se traduit par une forte variabilité intraspécifique de son génome. Celui-ci a été récemment séquencé par le Génoscope dans le cadre du GDR Génolevures. Le génome de *Y. lipolytica* est atypique comparé aux autres levures hémiascomycètes connues : ses 6 chromosomes totalisent plus de 20 Mb, 6703 gènes avec une densité génique de 46,3%. Son contenu en éléments transposables est lui aussi original. Alors que la majorité des levures étudiées ne possèdent plus que des éléments de classe I, principalement des rétrotransposons à LTR de type Ty1/*copia*, *Yarrowia* se caractérise par une grande diversité de transposons. La souche séquencée possède des éléments de classe I : trois familles de Ty3/*gypsy* (Ylt1, Tyl3, Tyl6), une famille de solo LTR, une famille de LINE (Ylli) ainsi que des éléments de classe II : Mutyl, élément de type Mutator et Fotyl, élément de type Fot1, Tc1-mariner. Grâce à la séquence complète du génome, nous avons pu analyser les éléments transposables dans un contexte global, étudiant leur site d'insertion, leur variabilité, leur (faible) implication dans la dynamique du génome. Finalement, en utilisant les transposons comme marqueurs génétiques, il a été possible de suivre leur présence dans différentes lignées de *Y. lipolytica* et de reconstituer ainsi l'évolution de cette espèce.

Microarray analysis of the transcriptome of *Blumeria graminis*, the obligate biotrophic pathogen of barley

M. Both, M. Czukai, M. P. H. Stumpf, P. D. Spanu

Imperial College London and Syngenta Ltd, Imperial College Road, Room 610 SAFB, London, SW7 2AZ London, UNITED KINGDOM

The expression of 2027 unigenes was followed throughout the normal course of *B. graminis* development from the ungerminated conidium, its early germination stages (4, 8 and 15hpi) to the proliferation on the host surface and in barley epidermis containing haustoria (3 and 5 dpi). Global correlation analysis showed that there was a marked shift in gene expression between the pre- and post-penetrative stages. This was due primarily to large scale changes in the metabolism of the fungus as it progressed through its development. For example, genes devoted to translation were significantly up-regulated when the fungus proliferates in the post-penetrative stages. Some of the genes encoding enzymes on common primary metabolic pathways showed striking coordinate expression. Thus, “glycolytic transcripts” increased significantly immediately after germination, then decreased and increased again in the samples containing haustoria. Glycogen degradation transcripts were abundant at early stages (4 and 8 hpi) and later decreased; this was matched by a significant peak in glycogen branching transcript when conidia are formed. Many lipid degradation transcripts levels were high at the early stages and decrease to low levels thereafter. The AdoMet cycle transcripts were most abundant in the proliferating and sporulating epiphytic mycelium.

There are a number of *B. graminis* cDNAs on our microarrays that are homologous to genes, such as cap20, known to affect pathogenicity in other fungi. Expression cluster analysis identified genes whose expression correlated with a cap20 homolog. One such expression cluster included a large proportion of genes that are associated to pathogenicity. Applying the “guilt-by-association” principle identified a number of cDNAs that are potential candidates for pathogenicity genes in *B. graminis*.

The genome sequence of the symbiotic fungus *Laccaria bicolor*

F. Martin (1), J. Wuyts (1,2), I. Grigoriev (3), P. Rouzé (2), S. Rombauts (2), A. Aerts (3), Asaf Salamov (3), D. Cohen (1), P.-E. Courty (1), C. Delaruelle (1), A. Deveau (1), F. Duchaussoy (1), S. Duplessis (1), J. Labbe (1), F. Le Tacon (1), A. Kohler (1), M. Peter (1), P. Bolkstein (3), J.-C. Detter (3), E. Lindquist (3), H. J. Shapiro (3), P. M. Richardson (3), Y. van de Peer (2), M. Muratet (4), G. Podila (4), JGI Production Sequencing Staff (3) & Laccaria Annotation Network

(1) UMR INRA/UHP 1136, Interactions Arbres/Microorganismes, INRA-Nancy, 54280 Champenoux

(2) Department of Plant Systems Biology, Flanders Interuniversity Institute for Biotechnology, Ghent University B-9052 Gent, BELGIUM

(3) US DOE Joint Genome Institute, Walnut Creek, CA 94598? USA

(4) Department of Biological Sciences, University of Alabama, Huntsville, USA

Tree species dominating forest ecosystems in boreal, temperate and montane regions develop symbiotic associations with soil fungi, so-called ectomycorrhizas. Ectomycorrhizas have a beneficial impact on plant growth in natural and agroforestry ecosystems. Central to the success of these mutualistic symbioses is the exchange of nutrients between the partners. To elucidate the genetic basis of this ecologically important behavior, the US Department of Energy Joint Genome Institute (JGI) has sequenced the 65-megabase genome of the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* (Agaricales, Tricholomataceae) to high draft using a whole genome shotgun method. This is the first symbiotic fungus genome to be sequenced. It contains about 20,000 intron-rich gene structures—more than twice as many as *Neurospora crassa* and *Phanerochaete chrysosporium*. Analysis of the gene set yields insights into unexpected aspects of *Laccaria* biology including the identification of genes potentially associated with wood decay. This fungus also possesses an expanded family of G-protein-coupled receptors, several virulence-associated genes and large suites of enzymes involved in secondary metabolism. About 40,000 ESTs from various cDNA libraries have been sequenced and the tentative consensi have been compared to gene models. Alternatively spliced and altered transcripts are abundant. The genome is rich in transposons belonging to various class I and II families. Comparison of the genomes of the different pathogenic and saprobic fungi with the *Laccaria* genome will be of interest to a wide range of genome and evolutionary scientists. It will provide critical insights into the genetic makeup of plant-fungus interactions.

Acknowledgements: This project is a collaborative effort involving: DOE Joint Genome Institute (JGI, coordinator: P Richardson), INRA-Nancy (UMR IaM, F Martin *et al.*), University of Alabama-Huntsville (Department of Biological Sciences, G Podila *et al.*), Gent University (Bioinformatics & Evolutionary Genomics Division, P Rouzé *et al.*) and DOE Oak Ridge National Laboratory (Dr. J Tuskan & Dr. S DiFazio).

Génomique fongique et évolution de la pathogénie pour les plantes

M.-H. Lebrun

UMR2847 CNRS-Bayer Cropscience, Fungal and Plant Physiology, 14-20 rue P Baizet, 69263 Lyon

Fungi have developed during their co-evolution with plants very different strategies to attack plants. Although biologically diverse, these infectious strategies may rely on common molecular mechanisms. *Magnaporthe grisea*, the rice blast fungus is the first fungal plant pathogen to be sequenced. Several other fungi have been or are currently being sequenced including the grape pathogen *Botrytis cinerea*. Comparative analysis of these genome sequences should help finding conserved pathogenicity genes as well as genes involved in the adaptation to a specific host. In many fungi, the early stage of infection relies on the formation of a specialised cell called the appressorium that breaches host cuticle and cell wall, mediating penetration of the fungus into host plant tissues. This process requires specific developmental programs and pathways identified through the study of non-pathogenic mutants obtained either by insertional mutagenesis or reverse genetics. In *M. grisea*, 40 genes required for infection have been characterized. They mainly encode proteins involved in signalling from receptors (*MPG1*, *PTH11*) to enzymes (MAP kinases, cAMP pathway enzymes) and effectors (transcription factors). Most other *M. grisea* pathogenicity genes encode enzymes involved in metabolic pathways important for appressorium-mediated penetration. These genes are conserved among fungi including saprobes in which they are frequently involved in non-essential cellular functions. This situation suggests that these genes have been recruited for new tasks by plant pathogenic fungi becoming absolutely required for infection. This is also true for genes with unknown function such as *PLS1* that is required for appressorium-mediated penetration in unrelated fungi such as *M. grisea*, *B. cinerea* and *Colletotrichum lindemuthianum*. *PLS1* orthologues were also detected in saprobic fungi although their cellular function is still unknown. Another striking difference between saprobic and pathogenic fungi is the number of genes families. *M. grisea* has 8 PKS-NRPS involved in the production of secondary metabolites that include the avirulence gene *ACE1*, while saprobes like *N. crassa* or *Aspergillus* species have only one PKS-NRPS. Similar trends were observed for genes encoding other enzymes of the secondary metabolism, secreted proteins and receptors (GPCRs) suggesting an evolution toward pathogenicity through the amplification and diversification of genes families involved in its interaction with host plants.

Effet de la structure en isochores du génome de *Leptosphaeria maculans* sur la distribution des gènes impliqués dans l'interaction avec la plante hôte

B. Profotova (1), I. Fudal (1), S. Ross (1), L. Gout (1), F. Parlangue (1), M. Eckert (1), L. Cattolico (2), S. Bernard-Samain (2), M.-H. Balesdent (1), T. Rouxel (1)

(1) INRA, PMDV, Route de St Cyr, 78016 Versailles

(2) Génoscope - Centre national de séquençage, 2 rue Crémieux, 91057 Evry

Leptosphaeria maculans est un champignon ascomycète responsable de la nécrose du collet du colza. Une collaboration entre l'INRA et le Génoscope a récemment permis le séquençage d'une région génomique de 1.3 Mb contenant les gènes d'avirulence *AvrLm1* et *AvrLm6*. Cette région présente une structure originale réminiscente des isochores des Eucaryotes supérieurs : l'alternance d'îlots présentant un taux homogène de G+C, avec une différence nette d'un îlot à l'autre. Les zones équilibrées en G+C (taille de 20 à 70 kb), généralement riches en gènes « de ménage », alternent avec de grandes régions (taille de 170 à 450 kb) à faible taux de G+C (30-40%) composées de mosaïques d'éléments répétés dégénérés (appelées ici régions REP). De telles régions sont très pauvres en gènes, et ceux-ci sont habituellement très éloignés de toute autre région codante. En général, les gènes ainsi prédits puis validés fonctionnellement sont caractérisés par (i) un taux de G+C similaire à celui de leur environnement, (ii) une petite taille de la région codante, (iii) la présence d'un peptide signal, (iv) la richesse en cystéines de la protéine prédite (6 à 8), (v) l'absence d'homologue dans les bases de données, (vi) l'absence d'homologie de séquence entre eux et (vii) leur absence dans les autres espèces du complexe *L. maculans*-*L. biglobosa*. Deux de ces gènes sont les gènes d'avirulence *AvrLm1* et *AvrLm6*, alors que les trois autres (appelés *LmCys1-3*) n'ont pas de fonction biologique connue. Une exception notable concerne *LmCys1*, qui, bien que partageant la plupart des caractéristiques des autres présente une homologie unique avec FoSix1, une protéine d'avirulence de *Fusarium oxysporum* et est accompagné d'une transposase comme chez *F. oxysporum*.

Chez *L. maculans*, des résultats préliminaires (séquençage de quelques BACs correspondant à un autre chromosome, cartographie génétique) suggèrent que des isochores similaires à ceux de la région *AvrLm1-6* existent sur d'autres chromosomes. Ces résultats interrogent quant à l'existence d'autres petites protéines au sein des zones REP, au rôle de ces petites protéines au cours de l'interaction avec la plante hôte, à leur acquisition (transfert horizontal ?) et à leur évolution.

Annotation structurale et fonctionnelle du génome de *Botrytis cinerea*

J. Amselem (1), E. Quevillon (1,4), C. Pommier (1), F. Legeai (1), D. Samson (1), S. Reboux (1), F. Artiguenave (1), E. Fournier (2), C. Levis (2), J.-M. Pradier (2), M. Viaud (2), A. Simon (2), S. Fillinger (3), M.-H. Lebrun (4)

INRA Centre de Versailles-Grignon,

(1) Unité de Recherche Genomique-Info, 91000 Evry

(2) Phytopathologie et méthodologie de la Détection, 78000 Versailles

(3) Unité de Phytopharmacie & Médiateurs Chimiques, 78000 Versailles

CNRS - Bayercropscience-Lyon

(4) UMR 2847, Physiologie des plantes et des champignons, 69009 Lyon

Botrytis cinerea, champignon de la classe des Ascomycètes est un des principaux agents pathogènes de la vigne (pourriture grise) et affecte un large spectre d'hôtes (plus de 200 espèces) en causant de sérieuses pertes de cultures à travers le monde. Dans le cadre du développement d'outils génomiques, une première banque de cDNA de mycélium a été séquencée par le Genoscope (<http://www.genoscope.cns.fr/>) générant des EST correspondant à environ 3000 contigs annotées par l'URGI (<http://urgi.infobiogen.fr/>). Un séquençage génomique 12X de la souche T4 a été initié au Genoscope en 2005 dont l'assemblage est en cours (~40Mb, ~16 chromosomes, 15.000 gènes). Ce séquençage en « whole genome shotgun » a été réalisé à partir de banques génomiques de 3 et 10Kb (environ 600 000 lectures) et 20 000 bacs permettant l'assemblage des contigs en « supercontigs », consistant en une suite ordonnée et orientée des différents contigs de séquences.

Nous mettons en place à l'URGI une plateforme bioinformatique fongique permettant de générer l'annotation automatique du génome de *Botrytis*, dans un premier temps puis d'autres génomes fongiques. Cette plateforme regroupe des outils d'analyse performants, une base de données et des interfaces graphiques de visualisation et d'édition. Leur intégration et configuration au sein de la plateforme bioinformatique de l'URGI est en cours. Le processus d'annotation structurale est basé sur la prédiction de gènes *ab initio* mais aussi sur des algorithmes de comparaison de séquences (ADN génomique/cDNA, ADN génomique/protéine). En effet la fiabilité des identifications de gènes dépend en grande partie des transcrits disponibles (EST) car la prédiction de gènes *ab initio* génère de nombreuses erreurs telles que des fusions de gènes et des erreurs d'épissage et n'arrive pas à détecter certains exons ou gènes. Afin de pallier à ce problème, 50 000 ESTs supplémentaires sont en cours de séquençage au Genoscope et seront intégrées dans le processus d'annotation. 5000 cDNA pleines longueurs ont été séquencés en 3' et 5' et seront utilisés pour l'entraînement des programmes de prédiction de gènes. En collaboration avec l'équipe de Thomas Schiex à l'INRA de Toulouse nous utiliserons Eugene comme intégrateur d'informations d'annotation et outil d'aide à la décision. L'annotation fonctionnelle de ces génomes sera réalisée sur l'ensemble des protéines identifiées par l'annotation structurale : recherche des orthologues de fonction connue et des domaines protéiques conservés, assignement des fonctions biochimiques, des localisations cellulaires et des processus biologiques. L'ensemble des annotations automatiques sera fourni à des experts pour validation et correction à travers une interface graphique évoluée, et accessible à l'ensemble de la communauté scientifique sur le site de l'URGI. Parallèlement, en collaboration avec le Genoscope, le MIG-INRA et le Broad Institute, différents outils d'analyse comparative seront adaptés aux génomes fongiques et utilisés pour comparer ce génome à ceux d'autres espèces fongiques proches taxonomiquement.

RESUMES DES POSTERS

Poster n° 1

Recherche d'un marqueur moléculaire de la souche L13 de *Microdochium dimerum*, agent de lutte biologique contre *Botrytis cinerea* sur tomate

D. Andurand, M. Bardin, P. Ladvie, A. Buffière, C. Troulet, P. Nicot

INRA Centre d'Avignon, Unité de Pathologie Végétale, Domaine Saint Maurice, BP94, 84143 Montfavet Cedex

Actuellement, peu de produits biologiques sont commercialisés dans le monde pour protéger la tomate contre *B. cinerea*. Dans le cadre du développement de méthodes de lutte biologique, la souche L13 de *Microdochium dimerum*, isolée par notre équipe, a montré un fort potentiel agronomique pour la lutte anti-*botrytis* sur plaies d'effeuillage de tomate. La démarche de valorisation industrielle de cette souche est en cours. Dans ce cadre, l'obtention d'un marqueur spécifique de la souche est demandée pour en garantir la protection industrielle, et pour la réalisation d'études de suivis (persistance, multiplication, propagation) dans l'environnement. Mais le développement et la validation d'un marqueur moléculaire spécifique de la souche antagoniste L13 nécessite dans un premier temps de disposer d'une collection de souches de *M. dimerum*.

Une telle collection a été réalisée à partir de la flore naturelle se développant sur plaies d'effeuillage saines dans 14 serres de tomates. Ces serres, plus ou moins infestées par *B. cinerea*, sont réparties sur le territoire national et sont conduites en agriculture conventionnelle ou biologique. Par serre, 100 échantillons de pétioles ont été prélevés. Des échantillons de sol ont également été prélevés sur deux sites. Après broyage, les suspensions contenant les pétioles et le sol ont été étalées sur milieu spécifique *Fusarium* (milieu Nash et Snyder). A partir de 750 fragments de pétiole traités (50 par serre) et des échantillons de sol, 23 colonies ayant des caractéristiques phénotypiques proches de *M. dimerum* ont été isolées. Les isolats sélectionnés ont ensuite été typés selon des critères morphologique macroscopiques sur milieu LPGA (couleur de la colonie) et microscopiques (taille et forme des macroconidies). Seulement sept isolats se sont révélés phénotypiquement très proches de L13.

La séquence de la région ITS de l'ADN ribosomique de ces souches ainsi que de 10 souches de *Microdochium dimerum* provenant de collections internationales (CBS, IMI, IP, PSU) a été réalisée. Un arbre phylogénique, basé sur le polymorphisme de la séquence ITS, a été établi à partir des séquences de ces souches et de séquences déposées dans des bases de données (EMBL, Genbank). L'arbre obtenu est structuré en trois groupes. Toutes les souches isolées en serre de tomate s'intègrent dans un groupe comprenant la souche L13 et la presque totalité des souches de l'espèce *Microdochium dimerum*. Ceci valide notre procédure d'isolement et d'identification d'isolats sur milieu spécifique et confirme l'appartenance de la souche L13 à l'espèce *M. dimerum*. Sur la base de la comparaison des séquences ITS de la souche antagoniste L13 et des souches de *M. dimerum* proches génétiquement, une zone spécifique à L13 a été identifiée et un couple d'amorces spécifiques de cette souche a été défini *in silico*. Le test de ces amorces par PCR n'a pas confirmé leur spécificité. Nous affinons actuellement les conditions de PCR afin de valider cette spécificité. En cas d'échec, nous envisageons de mettre en œuvre d'autres techniques moléculaires pour rechercher un marqueur spécifique de la souche antagoniste.

Poster n° 2

Y a-t-il un coût associé à la virulence vr9 chez la rouille jaune du blé ?

B. Bahri, M. Leconte, C. de Vallavieille-Pope, J. Enjalbert

INRA-INAPG, Epidémiologie Végétale et Ecologie des Populations, BP01, 78850 Thiverval-Grignon

Si les derniers modèles théoriques permettent d'expliquer le maintien du polymorphisme des gènes de résistance et de virulence sans recourir à un coût associé à ces gènes [1], l'existence d'un coût des virulences conserve un intérêt pratique dans la gestion des résistances. Un tel coût des virulences fait plutôt figure d'exception et malgré de nombreuses études, il n'a été démontré que dans de rares cas [2]. Cependant le coût de la virulence a pu être relié à la fonction de l'avirulence associée : plus cette fonction est importante pour la valeur sélective du parasite, et plus la virulence serait coûteuse et la résistance durable [2]. Afin de tester cette hypothèse, nous nous sommes attachés à mesurer la perte de valeur sélective imposée par l'acquisition d'une virulence (vr9) chez la rouille jaune du blé tendre, causée par *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*. Cette virulence est apparue en France en 1989 dans un pathotype possédant également la virulence vr6, mais ce pathotype n'a pas envahi la population française, malgré la présence de la double pression de sélection par les gènes de résistance Yr9 et Yr6. Pour tester l'existence d'un coût associé à l'acquisition de la virulence vr9, des expériences de compétition en conditions contrôlées et en plein champ ont été menées. Deux pathotypes ont été identifiés, ne différant que par la virulence vr9, ayant le même profil AFLP, et potentiellement issus l'un de l'autre par simple mutation. Deux isolats naturels par pathotype ont été sélectionnés pour leur grande proximité génétique (même profil AFLP). Les expérimentations ont été répétées 2 fois. Deux couples virulent/avirulent ont été constitués par un mélange 50/50 de spores. Dans la première expérience, les deux couples ont été cultivés pendant 5 générations sur 2 variétés sensibles (sans le gène de résistance Yr9) en conditions contrôlées. L'estimation des fréquences de virulence à chacune des 5 générations a montré pour un couple d'isolats un avantage sélectif de 20 % chez l'isolat avirulent, alors qu'aucune différence significative n'a été détectée pour l'autre couple. Dans l'expérience réalisée en plein champ, les mêmes mélanges de spores ont été inoculés fin mars et les fréquences de virulence estimées à la fin juin. Le comportement divergent des deux couples a été confirmé, avec cependant des évolutions de fréquences moins importantes. Face à ce résultat ambigu, l'hypothèse du coût des virulences, compensé chez certains isolats, et l'hypothèse alternative de variations indépendantes de l'agressivité (mutation délétère) sont discutées.

References:

- [1] Thrall P.H., Burdon J.J. 2002. Evolution of gene-for-gene systems in metapopulations: the effect of spatial scale of host and pathogen dispersal. *Plant Pathology* 51, 169-184
- [2]- Leach J., Vera Cruz C., Bai J. and Leung H. 2001. Pathogen fitness penalty as a predictor of durability of disease resistance genes. *Annual Review of Phytopathology*. 39, 187-224

Poster n° 3

Sexualité versus clonalité dans les épidémies de mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*) : diversité et résistance aux Qois dans deux parcelles du champenois

F. Martinez (1,2), M.-L. Panon (3), F. Delmotte (1), W.-J. Chen (1), M. Raynal (2) et M.-F. Corio-Costet (1)

(1)UMR 1065, Santé végétale (INRA-ENITA), INRA-Bordeaux, BP81, 33883 Villenave d'Ormon

(2) ITV-Blanquefort, Bordeaux

(3) Comité interprofessionnel des vins de champagnes

Le mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*) introduit en 1878 est un oomycète biotrophe qui alterne des générations sexuées et asexuées et qui possède une grande aptitude d'adaptation à la pression fongicide.

Généralement les contaminations secondaires (multiplication clonale) sont décrites comme représentant le risque épidémique et l'ensemble des stratégies de lutte découle de ce postulat. Des résultats récents (Gobbin et al., 2005) suggèrent que de nombreux génotypes seraient à l'origine du développement épidémique ce qui irait à l'encontre du postulat pré-cité.

A l'aide de marqueurs microsatellites et de marqueurs mitochondriaux (détectant deux haplotypes + les souches résistantes aux strobilurines (QOis)), nous avons évalué la diversité du mildiou à trois dates sur 2 parcelles en Champagne présentant des épidémies différentes (une lente et une explosive) et suivi l'évolution de la résistance aux Qois en absence de traitement.

Les résultats montrent une faible diversité allélique, une grande variabilité génotypique au sein des deux populations (diversité moyenne= 0.96) et une absence globale de déséquilibre de liaison entre les locus microsatellites. La différenciation entre les deux parcelles est faible. Toutefois, au sein des parcelles on note une différenciation significative ($F_{st}=0.014$) et en particulier entre chaque date de prélèvement ($F_{st}=0.024$). Concernant la distribution des haplotypes mitochondriaux, nous observons des modifications temporelles de la distribution des différents haplotypes et nous notons une augmentation de la résistance aux Qois en fin de saison.

L'évolution différentes de la structure génétique sur les deux parcelles peut être reliée à une différence de dynamique épidémique sur les deux sites : l'épidémie explosive résulterait d'une multiplication clonale de l'inoculum primaire combiné à un apport de nombreux nouveaux génotypes, tandis que l'épidémie plus lente correspondrait à une multiplication clonale. L'ensemble de ces résultats confirment ceux observés de l'équipe Suisse et nous permettent avec les résultats obtenus sur l'évolution de la résistance de renforcer l'hypothèse d'un rôle important de génotypes primaires d'origine exogène dans le cas d'épidémie explosive.

Références:

Gobbin *et al.*, 2005, Plant pathol., 54 :522-524.

Poster n° 4

Diversité génétique des populations de *Fusarium oxysporum* pathogènes de la tomate

V. Edel-Hermann, A.-C. Falvo, N. Gautheron, C. Steinberg

UMR Microbiologie et Géochimie des Sols, INRA-Université de Bourgogne, CMSE, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon Cedex

Fusarium oxysporum est un champignon d'origine tellurique très ubiquiste qui se développe en saprophyte dans les sols. Cette espèce fongique comprend des souches phytopathogènes responsables de fusarioses de nombreuses espèces végétales d'intérêt économique. Ces formes pathogènes montrent un très haut niveau de spécificité d'hôte et sont regroupées en formes spéciales (f. sp.) selon l'espèce végétale infectée. Deux formes spéciales différentes sont inféodées à la tomate : *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* provoque des trachéomycoses, alors que *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* engendre des nécroses racinaires. Seuls des biotests sur plantes permettent d'identifier ces deux formes spéciales et de les différencier des souches non pathogènes. Afin d'étudier la diversité génétique des populations pathogènes de la tomate, 130 souches de *F. oxysporum* isolées de tomates ou de sol ont été analysées en utilisant des méthodes de référence basées sur (i) des biotests en serres pour évaluer leur pouvoir pathogène, (ii) des tests de compatibilité végétative permettant de regrouper les souches capables de former des hétérocaryons en VCG (vegetative compatibility groups), et (iii) des analyses du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) de la région IGS (intergenic spacer) de l'ADN ribosomique amplifiée par PCR, permettant de regrouper les souches en types IGS. Parallèlement, la méthode d'AFLP (amplified fragment length polymorphism) a été développée afin de permettre une discrimination plus fine des souches, et de rechercher des marqueurs moléculaires spécifiques des VCG. En effet, la détermination des VCG constitue jusqu'ici une méthode de référence pour la caractérisation de *F. oxysporum* mais reste très lourde à mettre en œuvre. L'analyse de 130 souches pathogènes et non pathogènes a révélé une bonne corrélation entre les VCG et la diversité moléculaire. Les VCG constituent des sous-groupes à l'intérieur des types IGS. La comparaison des profils d'AFLP a mis en évidence la proximité génétique des souches appartenant à un même VCG. Elle permet également de comparer les souches appartenant à des VCG différents. Tous les VCG d'une même forme spéciale ne sont pas regroupés par l'analyse moléculaire, confirmant ainsi le caractère polyphylétique des formes spéciales *lycopersici* et *radicis-lycopersici*. L'analyse d'AFLP a révélé un grand nombre de marqueurs moléculaires et suggère qu'il sera possible d'identifier des marqueurs spécifiques des VCG regroupant les souches pathogènes de la tomate.

Poster n° 5

Etude de la structure génétique des populations de *Botrytis cinerea* du vignoble Bordelais

M. Fermaud (1), R. Marini (1), F. Martinez (1), F. Delmotte (1)

(1) Santé Végétale INRA-ENITAB, 71, av. E. Bourlaux, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon. (e-mail : fermaud@pop.bordeaux.inra.fr)

Botrytis cinerea (forme télomorphe : *Botryotinia fuckeliana*, ascomycète) est un champignon filamenteux, haploïde, à la frontière du saprophytisme et du parasitisme [1]. Il est responsable de la pourriture grise de la Vigne. Les épidémies se développent sur les baies en maturation et occasionnent d'importants dégâts quantitatifs et qualitatifs (difficultés de vinification, altérations organoleptiques et moindre aptitude au vieillissement des vins...). Sur fond de très grande diversité phénotypique et génotypique, cette espèce polyphage est constituée, notamment au vignoble, de plusieurs entités génétiques différenciées. Cette étude met en relation cette structuration intraspécifique (group I, groupII-*vacuma*, groupII-*transposa*) avec la structuration génétique neutre évaluée grâce à huit marqueurs microsatellites. Le phénotype des souches est également intégré en considérant la diversité morphologique des colonies *in vitro* sur milieu artificiel gélosé [2]. L'analyse est réalisée sur 300 isolats monospores issus de dix parcelles de Vigne échantillonnées en 2004 sur un même cépage (Merlot noir), non traitées par des fongicides spécifiques anti-*Botrytis*, et toutes situées en Gironde. Elle permet de décrire la distribution spatiale de la variabilité génétique et morphologique à l'échelle de ce département viticole. L'importance relative de la reproduction sexuée et asexuée, les hypothèses d'isolement par la distance et d'existence de barrières géographiques aux flux de gènes (rivières Garonne et Dordogne, en particulier) sont testées et discutées.

Références :

- MARTINEZ F., DUBOS B., FERMAUD M., 2005. The role of saprotrophy and virulence in the population dynamics of *B. cinerea* in vineyards. *Phytopathology*, **95** : 692-700.
- MARTINEZ F., BLANCARD D., LECOMTE P., LEVIS C., DUBOS B., FERMAUD M., 2003. Phenotypic differences between *vacuma* and *transposa* subpopulations of *B. cinerea*. *European Journal Plant Pathology*. **109** (5), 479-488.

Poster n° 6

A la recherche d'indicateurs de la qualité biologique des sols : suivi de descripteurs physico-chimiques, nématologiques et microbiens

C. Janvier (1,2), C. Steinberg (2), F. Villeneuve (1), V. Edel-Hermann (2), T. Mateille (3), J. Thioulouse (4), C. Alabouvette (2)

(1) CTIFL, Centre de Lanxade, BP21, 24130 La Force

(2) UMR Microbiologie et Géochimie des Sols, INRA/Université de Bourgogne, CMSE, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon

(3) IRD UMR CBGP, CS 30016, 34988 Montferrier-sur-Lez

(4) UMR CNRS 5558, Université Lyon 1, Bât. G.Mendel, 69622 Villeurbanne Cedex

L'objectif de cette étude est d'établir les relations existant entre différents descripteurs et la réceptivité d'un sol aux maladies, afin d'identifier des indicateurs potentiels de la qualité biologique des sols.

Trois pratiques culturales ont été appliquées dans un champ expérimental avant une culture de carottes. La première sous-parcelle, témoin (Té), a été conduite en agriculture raisonnée. La seconde (MO) a reçu un amendement organique sous forme de fumier de bovin composté. Une biodésinfection avec culture et incorporation de radis fourrager a été mise en place sur la dernière sous-parcelle (Bd). Vingt et un points ont été échantillonnés dans chaque sous-parcelle à 3 moments clés de la culture : avant le traitement, avant et après la culture de carottes. Ce dispositif a été suivi pendant 2 années complètes.

Différents paramètres ont été analysés : des caractéristiques physico-chimiques (C, N, matière organique, pH, CEC, teneurs en ions et oligo-éléments) et des caractéristiques biologiques :

-densités de bactéries et champignons cultivables et des populations de nématodes phytoparasites

-biomasse microbienne et respiration basale

-structure des communautés bactériennes et fongiques par T-RFLP (Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism) sur l'ADNr 16S ou 18S, et des populations de nématodes par méthode classique d'isolement et identification.

Parallèlement, la réceptivité du sol aux fontes de semis dues à *Rhizoctonia solani* a été mesurée lors d'un essai biologique.

Les différents jeux de données ont été analysés par Analyse en Composantes Principales.

Avant l'application des traitements, les caractéristiques du sol étaient très similaires dans les 3 sous-parcelles. La biodésinfection a entraîné, lors des 2 années de traitement, une augmentation significative des densités microbiennes, de la biomasse microbienne et de la respiration du sol. Cette pratique a aussi significativement diminué la réceptivité du sol aux fontes de semis dues à *R. solani* sur plantules de carottes. L'amendement organique et la biodésinfection ont modifié la structure des communautés (bactéries, champignons et nématodes). Des ACP intra- et inter-classes permettent de distinguer l'effet des traitements et l'effet de la saison de prélèvement.

Des analyses de co-inertie sur la base de données ainsi créée permettront de proposer une palette d'indicateurs de la qualité biologique, et plus particulièrement phytosanitaire, des sols.

Poster n° 7

Analyse par AFLP de la diversité génétique de *Phaeomoniella chlamydospora* impliqué dans les maladies de dépérissement de la vigne

G. Louvet (1), E. Moneva, F. Delmotte (1), P. Larignon (2), M.-F. Corio-Costet (1)

(1) INRA Bordeaux, UMR Santé végétale, 71 av. Edouard Bourleaux, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex

(2) ITV Languedoc-Roussillon, Domaine de Donadille, 30230 Rodilhan

L'esca est un symptôme de dépérissement de la vigne très complexe dont les causes ne sont pas encore complètement élucidées. Ce syndrome est caractérisé par la présence de symptômes foliaires et de nécroses brunes et/ou ponctuations noires ou de pourriture blanche à l'intérieur du cep. De nombreux champignons ont été décrits comme étant associés à ces nécroses. Parmi ces champignons, *Phaeomoniella chlamydospora* (*Pch*) est considéré comme un des champignons pionniers facilitant ensuite l'installation d'autres champignons. Les structures de reproduction asexuée (pycnides) se forment sur les plaies de tailles âgées ou dans des zones de craquelure du bois. Les spores libérées sont ensuite disséminées par l'eau et le vent pendant la période hivernale. Ce champignon endophyte peut aussi être présent dans les bois d'un an des vignes mères et pourrait donc se propager par les bois de porte-greffe et de greffon lors de l'élaboration des plants en pépinière. Sa présence a en effet été détectée à différentes étapes de la préparation des plants. Ce champignon est considéré comme se propageant uniquement par reproduction asexuée puisque aucune structure de reproduction sexuée n'a été observée au vignoble et par conséquent la forme sexuée de ce champignon n'est pas connue. Une étude de la diversité génétique de *Pch* par AFLP a été initiée afin de faire progresser les connaissances sur ce champignon et à terme de tester différentes hypothèses pour identifier le mode de contamination, l'origine de l'inoculum primaire et le mode de reproduction de ce champignon. 83 souches de *Pch* provenant de trois régions françaises (Alsace, Cognac et Sud-ouest) collectées en 1997, sont utilisées pour cette étude. La sélection de 10 couples d'amorces a permis la mise en évidence de 52 locus polymorphes potentiellement utilisables. Les premiers résultats indiquent une diversité faible et l'absence de structure des populations pour les trois régions testées, donc une importante dispersion de ces champignons pouvant être compatible avec l'hypothèse d'une contamination des plants dès la pépinière. Un déséquilibre de liaison significatif a été détecté pour deux des régions étudiées indiquant que les recombinaisons au sein des populations sont rares ou absentes. La reproduction de ce champignon semble donc être majoritairement asexuée. Nos premiers résultats montrent donc que l'étude de la diversité de ce champignon par AFLP permet de tester des hypothèses sur le mode de reproduction et l'origine de l'inoculum primaire. Un échantillonnage adapté à cette étude provenant de différentes pépinières du Sud-est est actuellement en cours de réalisation.

Poster n° 8

La survie hivernale de *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre, entraîne-t-elle une contre sélection des souches les plus agressives ?

J. Montarry, R. Corbière, D. Andrivon

UMR BiO3P, INRA Rennes, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu Cedex

L'évolution des populations pathogènes est fortement dépendante de la sélection imposée par les plantes hôtes pendant les épidémies, mais la compréhension des phénomènes de sélection imposés à ces populations entre les épidémies est indispensable pour appréhender dans sa globalité le fonctionnement des pathosystèmes. Les conséquences évolutives de la présence ou de l'absence d'une sélection sont tout aussi importantes entre les épidémies qu'au cours des épidémies elles-mêmes. Si une population pathogène n'est soumise à aucune contre-sélection sur l'agressivité, le niveau moyen de pathogénicité dans cette population va en effet tendre à croître régulièrement au cours du temps.

En France, où la reproduction sexuée n'est que très rarement observée, l'hivernage de *Phytophthora infestans* se produit essentiellement sous forme de mycélium présent dans les tubercules infectés restant dans les sols et dans les tas de déchets laissés à proximité des champs cultivés. Dans cette situation, on peut supposer que les souches les plus agressives font pourrir plus rapidement les tubercules qui leur permettent de survivre pendant l'hiver, ce qui entraînerait leur contre-sélection. Nous avons donc cherché ici à déterminer si la survie des souches de *P. infestans* pendant la période hivernale est dépendante de leur agressivité ou si elle se fait aléatoirement. Afin de tester cette hypothèse, des lots de tubercules, inoculés avec des souches d'agressivité connue (période de latence, taille de lésions et capacité de sporulation), ont été placés après la récolte (octobre 2004) en tas individualisés dans trois sites (Finistère, Ille-et-Vilaine et Pas-de-Calais) représentant trois conditions hivernales différentes.

La survie des tubercules (capacité à germer), notée en avril 2005, ne révèle aucune différence entre les lots inoculés avec les souches faiblement agressives, moyennement agressives ou fortement agressives. Seuls les lots témoins, constitués de tubercules non-inoculés, présentent un taux de survie supérieur. Notons que la survie des tubercules s'est avérée meilleure dans des conditions hivernales peu contrastées (douceurs des côtes bretonnes ou froid persistant du nord de la France) que dans des conditions hivernales alternant périodes douces et gels (Rennes).

Les résultats obtenus indiquent donc que la survie de *P. infestans* durant l'hiver semble indépendante du niveau d'agressivité des souches. Il est possible que ce résultat explique, au moins en partie, l'augmentation récente d'agressivité des populations européennes.

Poster n° 9

Diversité génétique et fonctionnelle du champignon mycorrhizien éricoïde résistant aux métaux lourds *Oidiodendron maius*

C. Murat (1), E. Martino (1), M. Vallino (1), M. Pitet (1), S. Picarella (1), E. Zampieri (1), E. Portis (2), S. Perotto (1)

(1) Dipartimento Biologia Vegetale, Università degli Studi di Torino, Viale Mattioli 20, 10125 Torino, ITALIE

(2) Di.Va.P.R.A. Plant Genetics and Breeding, University of Turin, via L. da Vinci 44, I-10095 Grugliasco, Torino, ITALIE

L'émission dans les écosystèmes terrestres d'une quantité croissante de métaux lourds liés à l'activité humaine représente une cause principale de pollution. Toutefois, les métaux lourds peuvent aussi avoir une origine naturelle dans certains types de sols comme dans le cas des roches serpentines, qui sont à l'origine de fortes concentrations en Chrome et Nickel. Ces contaminants ont des effets négatifs sur la microflore du sol, mais certains micro-organismes sont en grade de survivre en présence d'une concentration élevée de ces métaux. Parmi ceux-ci, des isolats du champignon mycorrhizien éricoïde *Oidiodendron maius* (*O. maius* Zn et *O. maius* Cd), isolés dans des sols ayant subi une contamination industrielle en Zinc et Cadmium, sont étudiés au sein de notre laboratoire depuis plusieurs années. Il a été montré que ces isolats présentent une meilleure croissance en présence de Zinc et Cadmium par rapport à des isolats provenant de sols non contaminés.

L'objectif de notre étude est de mieux connaître la diversité génétique et fonctionnelle de l'espèce fongique *O. maius*. Pour cela, nous avons sélectionné un site, formé de roches serpentines, du parc naturel du Mont Avic (vallée d'Aoste, Italie). L'analyse physico-chimique a confirmé la contamination de ce site par le Chrome et le Nickel. Les échantillons fongiques ont été isolés à partir d'apex racinaires de myrtilles (*Vaccinium myrtillus*). La diversité génétique a été analysée sur les échantillons du Mont-Avic et sur des isolats déjà présents au laboratoire (*O. maius* Zn et *O. maius* Cd) (i) par séquençage de la région ITS de l'ADN ribosomal ; (ii) par séquençage d'un marqueur fonctionnel : la région 5' du gène de la Superoxydedismutase (SOD) et (iii) par AFLP avec 4 combinaisons différentes de primers. La diversité fonctionnelle de ces isolats a été évaluée en testant leur croissance en présence de Chrome et de Nickel.

Parmi les différents isolats du Mont-Avic 15 ont été sélectionnés en se basant sur leurs caractéristiques morphologiques typique d'*O. maius*. Le séquençage de la région ITS a confirmé leur appartenance à cette espèce et a mis en évidence trois haplotypes. De même, trois haplotypes ont aussi été identifiés par le séquençage de la région 5' de la SOD. L'analyse AFLP a montré une importante diversité génétique au sein de cette population et a permis l'identification de 11 génets. En fait, le séquençage de l'ITS, de la SOD et l'analyse AFLP a mis en évidence trois groupes au sein des isolats du Mont-Avic. Enfin, les échantillons 5*L3 du Mont-Avic, *O. maius* Zn et *O. maius* Cd se caractérisent par une plus importante diversité génétique.

Les tests de croissance en présence et absence de Chrome et de Nickel ont mis en évidence plusieurs isolats présentant une bonne croissance en présence de ces contaminants. Parmi ceux-ci, l'isolat 5*L3 s'est révélé un des plus résistants. Un test de croissance de plantes de myrtilles mycorrhizées et non- mycorrhizées par 5*L3 montre que ce champignon augmente la résistance de ces plantes au Chrome, probablement par un mécanisme d'exclusion. D'autre part, les isolats *O. maius* Zn et *O. maius* Cd (qui sont résistants au Zinc et au Cadmium) ne présentent pas une bonne croissance en présence de Chrome et de Nickel, indiquant ainsi une adaptation liée au métal sur lequel les champignons sont isolés. Il y aurait donc différents mécanismes de résistance en fonction des différents métaux lourds.

Poster n° 10

Etude morphologique et enzymatique d'*Ascochyta rabiei*

N. Karkachi (1), S. Gharbi (1), M. Kihal (1), M. Labdi (2), J.-E. Henn (1)

(1) Université d'Oran es-sénia, Faculté des sciences département de biologie

(2) Institut national de la recherche agronomique de Sidi Bel Abbess

L'antracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L), due à *Ascochyta rabiei*, est la maladie fongique la plus redoutable pour cette culture. Cette maladie est difficilement contrôlable et ses épidémies peuvent causer la perte totale du rendement. *Ascochyta rabiei* est en effet un champignon qui présente une grande variabilité morphologique et pathologique. Dans notre étude nous nous sommes intéressés en premier temps sur la caractérisation biométrique du champignon, son pouvoir pathogène et l'étude quelques activités enzymatiques par dosages des sucres réducteurs et en deuxième temps l'étude du polymorphisme de cinq systèmes enzymatiques (Estérase, Phosphatase acide, Leucine aminopeptidase, Phospho-glucose isomérase) par la technique électrophorétique a montré des différences entre les deux isolats. L'étude de la variabilité morphologique des deux isolats (Y, H) a montré une différence de croissance sur les cinq milieux de culture utilisée, on note que la croissance sur le milieu farine de pois chiche ait le milieu proche du milieu naturel du pathogène du moment que la croissance été plus importante. Par ailleurs l'activité enzymatique a montré que les deux isolats ont produit l'enzyme PME sur milieu Mathur avec et sans pectine, de même en ce qui concerne l'enzyme PG été faible chez l'isolat H sur le milieu Mathur avec pectine et nulle sans pectine.

Mots clés : *Ascochyta rabiei*, Pois chiche, Anthracnose, enzymes pectiques, électrophorèse, isoenzyme.

Poster n° 1

Agressivité de souches de *Venturia inaequalis* contournant le gène de résistance *Vf* chez le pommier

V. Caffier, F. Didelot, B. Le Cam, L. Parisi

INRA Centre d'Angers, UMR PaVé, 42 rue Georges Morel, BP60057, 49071 Beaucozé

La tavelure, due à l'ascomycète *Venturia inaequalis*, est la maladie la plus préjudiciable du pommier dont la protection nécessite de nombreux traitements fongicides chaque année. L'utilisation de variétés résistantes permet une réduction du nombre de traitements, et différentes sources de résistance sont utilisées dans les programmes d'amélioration du pommier. Cependant, la majorité des variétés résistantes actuellement disponibles portent le même gène de résistance majeure : *Vf*. Cette résistance a longtemps été considérée comme durable, mais dans les années 1985-1990, les premières souches virulentes *VirVf* ont été identifiées en Allemagne et en Angleterre et se sont progressivement propagées en Europe. En France, des souches *VirVf* sont observées depuis 1995 dans le Nord-Ouest du pays, en verger de pommier à cidre (variété Judeline). En 2004, le contournement d'une nouvelle variété de pomme de table (Ariane) a été observé dans un verger expérimental du domaine de l'INRA d'Angers.

Les travaux de génétique des populations menés dans notre équipe ont montré l'existence d'une forte différenciation entre populations présentes sur les hôtes *Vf* et non *Vf*, expliquée dans certains cas par l'existence de réactions incompatibles entre les souches virulentes *VirVf* et certains hôtes non *Vf*. Il existe cependant des variétés sensibles aux deux types de souches (variété Gala par exemple), ce qui pourrait permettre un brassage génétique par reproduction sexuée entre les souches *VirVf* et *AvirVf*. Notre objectif est de déterminer si des croisements entre ces deux types de souches peuvent effectivement se produire ou s'il existe des mécanismes qui les freineraient, comme par exemple une fitness plus faible des souches virulentes sur hôte sensible (que ce soit lié ou non à un coût de la virulence). Dans cette étude, nous nous intéressons à l'agressivité des souches pendant la phase parasitaire, qui représente l'un des aspects de la fitness.

Huit souches (4 *VirVf* et 4 *AvirVf*) échantillonnées en 1999 sur diverses variétés dans différents pays européens ont été caractérisées pour leur agressivité sur Gala en conditions contrôlées. Les résultats obtenus montrent que les 4 souches *VirVf* sont en moyenne significativement moins agressives que les 4 souches *AvirVf*. Cette première conclusion demande à être vérifiée, car des facteurs autres que la virulence *VirVf* pourraient intervenir sur l'agressivité de ces souches d'origines diverses (adaptation variétale, exigences thermiques...). A l'avenir, l'hypothèse d'une moindre agressivité des populations *VirVf* sera testée en comparant différentes populations *VirVf* et *AvirVf* échantillonnées dans un même verger. L'agressivité des souches sera analysée en absence de compétition ou en les confrontant en mélange sur une même plante pour évaluer leur valeur compétitive. L'hypothèse d'une augmentation d'agressivité dans les populations *VifVf* au cours du temps sera également testée, notamment dans le verger de l'INRA d'Angers qui comporte les variétés Ariane et Gala, et où des notations et des prélèvements de souches ont été réalisés dès l'apparition du premier foyer de virulence.

Poster n° 2

Stratégies d'association de méthodes de lutte à effet partiel contre la tavelure du pommier.

F. Didelot (1), L. Brun (2), V. Caffier (1), L. Parisi (1)

(1) INRA Centre d'Angers, UMR PaVé, 42 rue Georges Morel, BP60057, 49071 Beaucouzé cedex

(2) Adresse actuelle : INRA-UERI, Domaine de Gotheron, 26320 Saint-Marcel-Les-Valence

La lutte contre la tavelure, causée par *Venturia inaequalis*, représente une part considérable des traitements phytosanitaires nécessaires à la protection d'un verger de pommier lorsqu'il est planté avec une ou des variétés sensibles à la maladie. Ces applications fongicides régulières agissent négativement sur la faune auxiliaire et peuvent favoriser le développement de certains ravageurs. De plus, des problèmes de résistance à certaines matières actives apparaissent régulièrement et de nombreuses situations d'échecs de protection contre la tavelure sont apparues ces dernières années dans l'ensemble du verger français. Il paraît donc important, dans le cadre d'une protection fruitière intégrée, de parvenir à mieux maîtriser la maladie tout en réduisant le nombre et l'impact des traitements fongicides. Pour y parvenir, la plantation de variétés présentant une résistance partielle à la maladie, associée à d'autres méthodes à efficacité partielle et à une lutte chimique raisonnée est une alternative intéressante. Il faut cependant disposer de bonnes variétés à résistance partielle, et des moyens d'intégrer différentes méthodes de lutte suivant des stratégies simples à appliquer et sans prise de risque pour l'arboriculteur. En particulier les seuils d'application de la lutte chimique, en tenant compte des autres moyens de lutte déployés, demandent à être précisés et validés. Pour progresser dans cette voie, nous avons tout d'abord évalué la résistance de la variété Reine des Reinettes, considérée comme peu sensible à la maladie, en absence de traitements fongicides, comparativement au comportement dans les mêmes conditions de Gala, variété sensible à la maladie, pendant trois années. Les résultats obtenus confirment l'intérêt de ce type de variété ; ils mettent en évidence un ralentissement du déroulement des épidémies sur feuilles de pousses, et une incidence de la maladie sur feuilles toujours significativement inférieure à celle de Gala, tout au long de la saison primaire. Le même type de résultat est obtenu sur fruits, avec une efficacité variable d'une année à l'autre en fonction des conditions climatiques. En 2005, une restructuration du verger expérimental a été entreprise pour étudier l'association de la résistance de Reine des Reinettes avec : 1) Une méthode de lutte prophylactique : la réduction de la litière foliaire, permettant de réduire la phase de reproduction sexuée aboutissant à la projection d'ascospores au printemps 2) Une lutte chimique raisonnée. Le raisonnement de la lutte chimique tient compte de la gravité du risque de contamination et du pourcentage d'ascospores projetées. Toutefois, pour ne pas être amené à traiter uniquement en curatif (une fois le seuil dépassé), des traitements préventifs sont autorisés en fonction du stock d'ascospores projetables et des prévisions météorologiques. Dans le même verger, la variété Ariane (gène *Vf*) sera traitée suivant le même protocole, avec un objectif différent : estimer, en présence de souches virulentes (contournement observé en 2004) si les mesures prophylactiques et la lutte chimique raisonnée sont aptes à prolonger la durabilité de la résistance, en comparaison avec des parcelles non traitées. Les résultats préliminaires obtenus en 2005 sur Reine des Reinettes, avec seulement 5 traitements au cours de la saison, sont encourageants.

Poster n° 3

Mise au point d'une méthode de détection de *Phytophthora alni*, agent du dépérissement de l'aulne glutineux, dans l'eau de rivière et le sol et applications épidémiologiques

C. Husson, A. Alonso, O. Caël, P. Frey, R. Ioos, B. Marçais

INRA Nancy, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes, Equipe Pathologie forestière, 54280 Champenoux

L'aulne glutineux est une espèce primordiale dans les ripisylves (formation végétale arborée le long d'un cours d'eau) où elle joue un rôle écologique (essence pionnière, niche à poissons, épuration des eaux) et mécanique (maintien des berges). Or, depuis le début des années 1990, de graves dépérissements sont observés en Europe qui provoquent des taux de mortalité importants et inquiètent les gestionnaires des cours d'eau. Cette maladie émergente est due à un Oomycète hybride, *Phytophthora alni*. L'agent pathogène est présent dans le sol, se dissémine dans l'eau de rivière grâce à ses zoospores flagellées et pénètre par les fines racines et les lenticelles au niveau du collet. Afin d'enrichir les connaissances sur l'étiologie et l'épidémiologie de la maladie, nous avons mis au point des méthodes de détection fiable du parasite dans le sol et dans l'eau de rivière.

Concernant le sol, cinq méthodes d'extraction d'ADN ont été testées à partir de sols inoculés artificiellement avec des zoospores de *P. alni*. La méthode utilisant le FastDNA® SPIN Kit for soil (Qbiogene) s'est révélée la plus efficace mais avec des seuils de détection variable selon la texture du sol. Par ailleurs, une méthode couplant le piégeage biologique à l'aide de feuilles de rhododendron et l'utilisation d'un couple d'amorces spécifiques de *P. alni* s'est montrée efficace pour détecter la forme active du parasite dans le sol dans des sites fortement infectés.

Pour détecter *P. alni* dans l'eau, nous avons mis au point un système de pompage applicable directement au bord de la rivière. L'eau pompée est filtrée sur un filtre en nylon de pores 11 µm sur lequel est effectuée par la suite une détection par PCR avec le couple d'amorces spécifiques. Il est ainsi possible de détecter *P. alni* dans une suspension contenant 10 zoospores par litre d'eau de rivière.

Ces méthodes ont été appliquées sur un dispositif expérimental mis en place le long d'une rivière, la Sarre, en Moselle, où environ 1/3 des aulnes sont malades. Quelque soit le type d'échantillons analysés, la date de prélèvement avait un effet sur le nombre de détection de *P. alni*, alors que l'état sanitaire des aulnes à proximité n'en avait pas. Concernant le sol, la fréquence de *P. alni* était plus faible quand le taux de matière organique était élevé. La détection dans le sol par extraction directe de l'ADN avec le kit varie en fonction du rapport argile/sable et du pH alors que ces mêmes facteurs sont sans influence sur la détection par piégeage biologique.

Session : *EPIDEMIOLOGIE*

Poster n° 4

Epidémiologie du mildiou (*Bremia lactucae*) dans une culture de laitue associant une lignée résistante à une variété sensible

B. Maisonneuve (1), C. de Vallavieille-Pope (2), M. Pitrat (1)

(1) INRA – Unité de Génétique et d'Amélioration des Fruits et Légumes, Domaine Saint Maurice, BP94, 84143 Montfavet cedex

(2) INRA – UMR INRA-INA-PG d'Epidémiologie végétale et écologie des populations, BP01, 78850 Thiverval Grignon

Bremia lactucae Regel est un Oomycète, parasite obligatoire qui se développe dans les zones de cultures de laitues de toutes les régions tempérées. Ce mildiou constitue toujours l'une des principales menaces dans les cultures de laitue malgré l'utilisation de variétés résistantes. En effet depuis 40 ans, le *Bremia* a contourné tous les gènes utilisés dans les variétés commerciales, aussi bien ceux identifiés chez la laitue (*Lactuca sativa*) que ceux introgressés d'espèces apparentées (*L. serriola* et *L. saligna*). Le cumul dans un génotype de 2 à 3 gènes de résistance, parmi les 18 répertoriés, permet encore d'offrir des variétés résistantes, mais pour combien de temps? Les souches européennes les plus virulentes possèdent déjà 13 à 15 facteurs de virulences.

A l'INRA, nous avons créé des lignées (ViCQ et ViAE) résistantes à toutes les souches testées, grâce à des gènes introgressés de 2 accessions de *L. virosa*. Afin de limiter l'évolution du *Bremia* par un effet de zone refuge, nous testons la faisabilité de culture multi-lignées. Nous contrôlons également l'efficacité de nos résistances en contamination naturelle. Pour ces études, nous suivons les épidémies dans un tunnel plastique froid d'hiver (plantation début novembre, récolte début février) depuis 3 ans. Nous avons comparé l'évolution du *Bremia* sur les plantes de la variété sensible (var Flavona) cultivée en parcelle pure ou en mélange avec les lignées Vi sur 4 répétitions par culture.

Au cours des trois cultures successives, aucune plante de Vi n'a été contaminée. Les deux résistances (ViCQ et ViAE) sont donc toujours non contournées.

La vitesse de développement du mildiou et l'intensité des symptômes ont varié au cours des trois hivers. En 2002-2003, dans 2 répétitions moyennement contaminées, la maladie a été significativement moins forte dans les parcelles de mélanges qu'en Flavona pure. En 2003-2004, la maladie s'est développée brutalement fin janvier avec une attaque très forte ; aucune différence entre parcelles n'est observée (toutes les Flavona fortement contaminées et non commercialisables). En 2004-2005, l'épidémie s'est développée lentement sans différences entre traitements ; à la récolte, très peu de plantes de Flavona étaient contaminées et les symptômes étaient en général de faible intensité. Nous présenterons des hypothèses pouvant expliquer ces variations de résultats entre années.

En ce qui concerne les spectres de virulence des isolats de *Bremia* récupérés dans ces cultures (sur les plantes de Flavona et dans des boîtes pièges), ils présentent très peu de variation intra-année. Nos premiers résultats tentent à montrer une contamination aérienne, soit de l'extérieur, soit à partir d'inoculum placé dans le tunnel selon les années ; il n'y aurait pas eu de contamination à partir de souche conservée dans le sol d'une année sur l'autre.

Poster n° 5

Réponse des communautés microbiennes telluriques aux amendements organiques

A. Pérez-Piqueres, V. Edel-Hermann, C. Alabouvette, C. Steinberg

UMR Microbiologie et Géochimie des Sols, INRA-Université de Bourgogne, CMSE, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon Cedex

L'apport d'amendements organiques est une pratique culturale couramment utilisée d'une part pour compenser le déficit en matières organiques dans les sols et améliorer la qualité des sols et d'autre part pour contribuer au recyclage des déchets organiques produits par les activités anthropiques. Cependant, l'impact de ces amendements sur les communautés microbiennes telluriques est peu connu. Nous avons évalué la réponse de la microflore du sol à l'apport de différents composts (Pérez-Piqueres *et al.*). Deux sols agricoles ayant des propriétés physico-chimiques différentes et trois composts (un compost de déchets verts et deux composts de champignonnières d'origines différentes) ont été utilisés dans des expériences en conditions contrôlées. Différents paramètres ont été comparés entre les sols amendés et non amendés. Les communautés bactériennes et fongiques cultivables ont été dénombrées et les activités microbiennes globales ont été estimées par des mesures de respiration basale et de respiration induite (SIR, substrate induced respiration). L'état sanitaire des sols a été évalué par des mesures de réceptivité des sols aux maladies dues à *Rhizoctonia solani* réalisées dans des biotests en serres. De plus, les modifications de structure métabolique et moléculaire des communautés bactériennes et fongiques ont été évaluées. Les profils métaboliques des communautés bactériennes ont été déterminés en utilisant des plaques Biolog™. Les structures des communautés bactériennes et fongiques ont été analysées en utilisant la méthode de T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism) ciblant l'ADN ribosomique 16S et 18S, respectivement. Les données ont été analysées avec des analyses de variance et des analyses en composantes principales. L'impact des amendements organiques sur les caractéristiques du sol dépend de la nature du compost et du type de sol. Les composts de champignonnières utilisés ont modifié tous les paramètres biologiques mesurés dans les deux sols, alors que le compost de déchets verts n'a pas modifié les densités bactériennes et fongiques, les valeurs de respiration et l'état sanitaire des deux sols. Les modifications des profils de T-RFLP des communautés bactériennes induites par les composts ne sont pas associées à des modifications de structure métabolique, suggérant la redondance fonctionnelle des microorganismes du sol. Les mesures de densité, d'activité et de structure des communautés microbiennes nous ont permis d'apprécier l'impact des amendements organiques sur la microflore tellurique mais aussi d'évaluer ses répercussions sur le fonctionnement du sol en analysant son état phytosanitaire. Les variations de réceptivité des sols ont été reliées à des différences de composition chimique, de disponibilité en nutriments à court terme, et de composition des communautés microbiennes, dues à l'apport et la stimulation de microorganismes par les amendements organiques.

Référence :

Pérez-Piqueres A., Edel-Hermann V., Alabouvette C., Steinberg C. 2005. Response of soil microbial communities to compost amendments. *Soil Biology & Biochemistry*, *sous presse*.

Poster n° 6

Evolution des populations de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (*Ggt*), agent du piétin-échaudage du blé sous l'effet de pressions de sélections exercées par des cultures successives de blé et des traitements fongicides répétés

L. Lebreton, P. Lucas, A. Sarniguet

INRA Centre de Rennes, UMR BiO3P (Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes). Domaine de la Motte, B.P. 35327, 35653 Le Rheu

Le piétin-échaudage, causé par le champignon du sol *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (*Ggt*), est la principale maladie racinaire du blé. Contre cette maladie, un fongicide à base de silthiofam (Monsanto), utilisé en traitement de semences, a été homologué en France en 2002. L'objectif de cette étude est de connaître l'effet de cultures successives de blé et de traitements répétés avec le fongicide sur la structure des populations de *Ggt*. L'expérimentation a été menée durant 5 années de 1999 / 2000 à 2003 / 2004 dans des parcelles naturellement contaminées sur le site INRA de Pacé (Ille et Vilaine, 35, France). Les populations de *Ggt* ont été échantillonnées dans des monocultures de blé ayant subi ou non des traitements fongicides successifs. Elles ont été comparées à l'aide de marqueurs moléculaires de type AFLP (Polymorphisme de Longueur de Fragments Amplifiés) et leur sensibilité au fongicide a été mesurée au laboratoire. Chaque année ces populations sont organisées en deux génotypes : G_1 et G_2 . Il existe une relation entre la fréquence de ces deux génotypes et la quantité de maladie mesurée au champ à la date d'échantillonnage. Même si le génotype G_2 est en moyenne plus sensible au fongicide que le génotype G_1 , l'évolution des populations de *Ggt* est davantage orientée par la pression de sélection exercée par les cultures successives de blé que par les traitements fongicides répétés avec le silthiofam.

Session : *EPIDEMIOLOGIE*

Poster n° 7

Quantification de *Rhizoctonia solani* dans les sols par PCR en temps réel et relation avec son potentiel infectieux

C. Steinberg, M. Jobard, C. Dreumont, N. Gautheron, V. Edel-Hermann

UMR Microbiologie et Géochimie des Sols, INRA-Université de Bourgogne, CMSE, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon Cedex

Rhizoctonia solani est un champignon d'origine tellurique, phytopathogène et responsable de dégâts importants sur un large spectre d'hôtes végétaux. Ce champignon provoque des fontes de semis, des nécroses et des pourritures racinaires. Les attaques dues à ce champignon se caractérisent par une apparition de la maladie en foyers dans les cultures, répartis de manière hétérogène et mobiles d'une année sur l'autre, et restent donc imprévisibles. La conservation et le développement saprophyte du champignon dans les sols pourraient être responsables de l'occurrence et du comportement des foyers. Cependant, aucun outil ne permet de suivre sa dynamique de populations dans les sols. En effet, aucun milieu suffisamment sélectif pour *R. solani* n'est connu. De plus, les densités d'inoculum sont souvent faibles dans les sols, de l'ordre de 1 à 50 propagules pour 10 g de sol. L'absence d'outil de quantification de *R. solani* limite les connaissances de son écologie et la compréhension de l'apparition des foyers de maladie. Dans cette étude, une méthode de PCR quantitative en temps réel a été développée pour permettre de quantifier *R. solani* et de suivre sa dynamique de population dans les sols. Des amorces oligonucléotidiques spécifiques de l'AG2-2 de *R. solani* ont été définies, permettant l'amplification d'un fragment de 150 pb de la région ITS (internal transcribed spacer) de l'ADN ribosomique. Ces amorces ont été validées dans des essais de PCR en temps réel basés sur la fluorescence du SYBR Green et une courbe standard réalisée avec des dilutions d'ADN plasmidique contenant la cible clonée, linéaire de 10^2 à 10^9 copies par réaction. La méthode de quantification a été appliquée à des microcosmes de sols dans lesquels une souche de *R. solani* AG2-2 a été introduite. L'inoculum fongique produit sur du millet a été introduit dans deux sols de propriétés physico-chimiques différentes, préalablement stérilisés, et le développement de *R. solani* a été suivi pendant 30 jours d'incubation. Les densités de populations ont été évaluées en utilisant (i) d'une part la PCR quantitative en temps réel appliquée aux ADN extraits de différents prélèvements de sol, et (ii) d'autre part une méthode probabiliste basée sur l'estimation du nombre le plus probable (MPN, most probable number) de champignons par gramme de sol. Parallèlement, l'activité infectieuse du champignon vis-à-vis d'une plante hôte sensible, la carotte (*Daucus carotta*), a été mesurée. La relation entre le potentiel infectieux et la densité d'inoculum mesurée par la méthode d'estimation du MPN et la PCR en temps réel est discutée. La méthode moléculaire de quantification de *R. solani* permettra de détecter et de quantifier le champignon *in situ* et d'étudier son développement dans les sols soumis à différentes pratiques culturales.

Poster n° 8

Etude épidémiologique de la fusariose des céréales : Analyse de la voie systémique d'infection de l'épi, et des infections tardives ou à faible dose d'inoculum

E. Pelzer (1), S. Gelisse (2), T. Doré (1) et C. Lannou (2)

(1) INRA Agronomie, BP 01, 78 850 Thiverval Grignon

(2) INRA Epidémiologie Végétale, BP 01, 78 850 Thiverval Grignon

La fusariose de l'épi est l'une des maladies actuellement les plus redoutées chez le blé (Parry *et al.*, 1995 ; Gilbert and Tekauz, 2000) car elle peut non seulement provoquer des pertes de rendement, mais aussi présenter un risque sanitaire important du fait que les grains infectés contiennent des mycotoxines dangereuses pour l'alimentation animale et humaine (Champeil *et al.*, 2004 ; Ioos *et al.*, 2004). La fusariose de l'épi peut être causée par plus de 17 espèces des genres *Fusarium* et *Microdochium*. Plusieurs formes d'inoculum (asexuées ou sexuée chez certaines espèces) existent. On sait que la principale source d'inoculum primaire de la maladie provient des débris de culture infectés, et que l'inoculum est ensuite dispersé par le vent, la pluie ou des vecteurs arthropodes (Parry *et al.*, 1995 ; Fernando *et al.*, 2000). Le stade floraison semble unanimement décrit comme le plus sensible à l'infection (Parry *et al.*, 1995 ; Shaner, 2003). Pourtant, des doutes persistent quand aux voies possibles de contamination des épis (aérienne ou systémique) et à la sensibilité de l'épi après la floraison. D'autre part, on relie très mal les symptômes observés au risque effectif de contamination des grains par les toxines. Notre objectif est, par une démarche analytique, de mieux comprendre l'infection des épis et les conditions de contamination par les toxines dans le but d'améliorer la gestion du risque au champ. Ces questions ont été abordées par des expérimentations en conditions contrôlées. Un protocole expérimental consistant en l'inoculation d'épis de blé à différents sites, dates et doses d'inoculation, avec trois espèces de *Fusarium* nous a permis de comparer la contamination systémique avec la contamination aérienne, et de montrer que la contamination systémique des épis était inexistante dans nos conditions de croissance et d'inoculation, bien que les espèces de *Fusarium* utilisées étaient capables de coloniser partiellement la tige. D'autre part, nous avons étudié l'effet d'infections tardives (post floraison), et l'impact de doses d'inoculum faibles sur les symptômes produits, la proportion de grains contenant du fusarium, et la teneur en toxine des grains. On a alors montré que l'épi reste sensible jusqu'à des stades très tardifs et que des doses faibles suffisent à des infections d'épis importantes. On a également montré, dans le cadre des deux questions traitées, des différences entre les espèces de *Fusarium* dans la capacité à coloniser la tige et dans la capacité à infecter les épis. On a enfin montré que les notations d'incidence et de sévérité au champ (symptômes sur épi) rendent très mal compte de l'infection réelle des grains, et nécessitent d'être modifiée pour une meilleure prédiction des risques de contamination des lots de grains en mycotoxines. Ces résultats sont discutés en relation avec la mise au point de modes de conduite des cultures permettant une limitation de l'infection des grains de blé par la fusariose.

Poster n° 9

Epidémiologie du dépérissement de l'aulne glutineux dû à *Phytophthora alni*

B. Thoirain, C. Husson, P. Frey, R. Ioos, B. Marçais

INRA Nancy, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes, équipe Pathologie forestière, 54280 Champenoux

Depuis le début des années 1990, en Europe, l'aulne glutineux (*Alnus glutinosa*) subit de graves dépérissements essentiellement le long des cours d'eau où il joue un rôle écologique majeur. Cette maladie émergente est due à un Oomycète hybride, *Phytophthora alni*, qui provoque des taux de mortalité importants. L'agent pathogène est présent dans le sol, se dissémine dans l'eau de rivière grâce à ses zoospores flagellées et pénètre par les fines racines et les lenticelles au niveau du collet. Durant l'été 2004, nous avons mené une étude épidémiologique dans le nord-est de la France afin de déterminer la fréquence d'arbres malades et les facteurs de risque associés à la maladie. Notre enquête a révélé que 17 % des aulnes sont malades sur les bassins de la Meuse, de la Moselle et de la Sarre. 80% des sites prospectés sont infectés. La présence du parasite a été confirmée par isolement mycologique ou par détection moléculaire (couples d'amorces spécifiques) dans plus de 2/3 des sites. Les principaux facteurs de risque associés à la maladie sont la typologie des cours d'eau, la température de l'eau de rivière, la texture du sol, la présence de pont ou route à proximité et le recouvrement de la strate arborée. Les rivières à eaux calmes des plateaux calcaires et des plaines présentent des taux de dépérissement d'aulnes plus importants que les rivières à eaux vives de moyenne montagne, de piémont et de côtes calcaires. Un courant faible permet sans doute une accumulation d'inoculum au pied des arbres, ce qui engendre un risque plus élevé d'infection par les racines. Par ailleurs, le pourcentage d'aulnes malades est plus élevé quand la température de l'eau de rivière augmente et quand la texture du sol de la berge est argileuse, paramètres liés à la biologie du parasite.

Session : *INTERACTIONS MOLECULAIRES*

DK 530 643

Poster n° 1

Distribution and origin of the rice blast resistance gene *Pi33*

E. Ballini (1), R Berruyer (1), A. Bordat (1), E. Vergne (1), J.B. Morel (1), M.-H. Lebrun (2), J.-L. Nottéghem (1), D. Tharreau (1)

(1) CIRAD – UMR BGPI, TA 41 / K, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5

(2) CNRS - Bayer CropScience, BP9163, 69623 Lyon

Few reports on the distribution of resistance genes to plant pathogens within a species are available. Because of its genetic structuration, *Oryza sativa* can be an interesting model for such a study. We were interested in the interaction between the resistance gene to blast *Pi33* and its corresponding avirulence gene *ACE1*. Although *Pi33* was not cloned, its allele(s) conferring resistance can be identified by inoculation of pairs of isogenic strains of *Magnaporthe grisea* differing only for *ACE1*.

One-hundred-eighty-three varieties of *O. sativa* were inoculated with isogenic strains. Twenty-three varieties of the Indica subspecies (mainly modern semi-dwarf varieties) carrying a resistance allele of *Pi33* were identified representing 21,6 percent of the Indica varieties tested. None of the 45 Japonica varieties tested carried the resistance allele.

In order to identify the original donors of *Pi33*, the genealogies of the varieties carrying *Pi33* were examined. In addition, 28 parental lines from IR64 were tested to seek the donor of resistance for this variety. Two possible origins of resistance could be identified: Tsai Yuan Chung and the wild rice *O. rufipogon*. These two candidates were confirmed as possible sources of resistance by genotyping and sequencing. It appears that both resistance sources were commonly used in breeding programmes leading to modern semi-dwarf Indica varieties.

The presence of *Pi33* in *O. rufipogon* led us to the hypothesis that *Pi33* existed before domestication. This hypothesis was confirmed by the detection of *Pi33* in *O. latifolia* (CCDD genome), *O. barthii* (AA) and diverse accessions of *O. rufipogon* (AA).

Poster n° 2

DK 530644

Cloning of *Pi33*, the rice resistance gene corresponding to the cloned avirulence gene *ACE1* of *Magnaporthe grisea*

E. Ballini (1), A. Bordat (1), E. Vergne (1), J.B. Morel (1), M.-H. Lebrun (2), J.- L.Nottéghem (1), D. Tharreau (1)

(1) CIRAD – UMR BGPI, TA 41 / K, Campus International de Baillarguet ,34398 Montpellier Cedex 5

(2) CNRS - Bayer CropScience, BP9163, 69623 Lyon

The *Oryza sativa-Magnaporthe grisea* pathosystem is of economic importance but it is also a model for the plant-fungus interaction studies. A gene-for-gene system was described for this pathosystem. However, the number of specific interactions characterized at the molecular level is still restricted. After cloning the avirulence gene *ACE1* of *M. grisea* (Böhnert et al. 2004, Plant Cell), we undertook the positional cloning of the corresponding resistance gene *Pi33*. *Pi33* was localised on chromosome 8 of rice in two independent crosses (Berruyer et al. 2003, TAG). A fine mapping allowed us to place the gene between two markers distant of 240 kb. In this area, a cluster of 9 candidate genes was identified by analysis of the sequence of Nipponbare (which is deprived of *Pi33*). This analysis was confirmed by the sequencing of two BAC clones covering the same region in IR64 (which carries a resistance allele of *Pi33*). To identify the gene among the candidates, several strategies were developed. Silencing experiments by RNAi were started. Partial sequences of the different candidates were compared between varieties with or without *Pi33*. Polymorphism of flanking markers was also characterized. Finally, expression of the candidates was measured by RT-PCR in varieties with or without *Pi33*.

Poster n° 3

Production de mycotoxines par *Fusarium graminearum* : effets du pH sur la biosynthèse des trichothécènes

C. Barreau (1), C. Bernarde (1), A.-L. Boutigny (2), N. Ponts (1), L. Pinson-Gadais (1), F. Richard-Forget (1)

(1) INRA Centre de Bordeaux, UR 1264 MycSA, BP 81, 71 rue Edouard Bourleaux, 33883 Villenave d'Ornon Cedex
(2) IRTAC, 67 boulevard Richard Lenoir, 75011 Paris

Les champignons pathogènes du genre *Fusarium* sont des agents responsables de graves épidémies de fusariose sur céréales et maïs. Outre les dégâts et pertes de rendements provoqués, ces microorganismes sont capables de produire des mycotoxines qui peuvent rendre les récoltes impropres à la consommation. La réglementation européenne qui entrera en vigueur en 2007 (Règlement (CE) N° 856/2005 de la Commission du 6 juin 2005) va imposer des seuils de contamination pour les différents produits céréaliers.

Le contrôle des épidémies de fusariose par lutte chimique est difficile et coûteux et ne peut garantir, avec les molécules existantes actuellement, la production de céréales indemnes de toxines ou du moins en deçà des seuils exigés par la réglementation. En l'absence de procédés de décontamination applicable, il est nécessaire d'agir en amont, c'est-à-dire de pouvoir limiter la production de fusariotoxine au champ. Les connaissances sur la biosynthèse des mycotoxines et surtout, sur les facteurs capables de limiter la production de toxines au champ sont limitantes. Une approche *in vitro* doit, dans un premier temps, permettre de déterminer quels sont les facteurs décisifs dans la régulation de la biosynthèse des mycotoxines par ces microorganismes et éventuellement, de découvrir de nouvelles cibles pour lutter contre l'occurrence de toxines dans les céréales.

Fusarium graminearum, l'espèce la plus fréquemment retrouvée aussi bien sur blé que sur maïs, est responsable de la contamination par des trichothécènes de type B (TCT B). La voie de biosynthèse de ces métabolites secondaires est mieux connue aujourd'hui, et l'accès aux gènes « *Tri* » impliqués permet de mieux comprendre les mécanismes régulant leur biosynthèse. Nous nous sommes intéressés dans notre étude aux fluctuations du niveau de biosynthèse des TCT B dues aux variations du milieu de culture du champignon. L'influence de ces conditions semble un facteur important pour l'induction de la biosynthèse. En particulier, nous avons étudié l'effet de l'évolution du pH du milieu sur la production de toxine et sur l'induction du gène *Tri5*, premier gène de la voie de biosynthèse des TCT B chez *F. graminearum*. Les résultats obtenus suggèrent qu'un changement brusque du pH est capable d'induire l'expression du gène *Tri5* et la biosynthèse des TCT B. Des boîtes correspondant à la séquence consensus 5'GCCARG3' de fixation du facteur PacC contrôlant le pH chez *Aspergillus* sont présentes dans les promoteurs de plusieurs gènes « *Tri* » et en particulier des gènes régulateurs *Tri6* et *Tri10*. Ceci pointe le doigt vers un rôle possible du facteur de contrôle de l'homéostasie du pH dans la régulation de l'expression des gènes de la voie de biosynthèse des trichothécènes.

Poster n° 4

Signature métabolique du pathosystème *Arabidopsis thaliana*-*Pseudomonas syringae* pv *tomato*: une aide à la génomique fonctionnelle de la résistance induite chez les plantes

F. Bellvert, M. Langlois-Meurinne, C. Gachon, P. Saindrenan

Institut de Biotechnologie des Plantes, CNRS-Université Paris-Sud, Bât. 630, 91405 Orsay Cedex

La réaction d'hypersensibilité (HR) est la forme de résistance induite aux agents pathogènes la plus efficace chez les plantes. La HR est accompagnée d'une profonde re-programmation du fonctionnement de la plante vers les défenses qui peut être visualisée au niveau du transcriptome, du protéome ou du métabolome de l'interaction. La génomique fonctionnelle ayant pour but de préciser le lien entre la fonction d'un gène et le phénotype observé, la métabolomique a pour ambition d'appréhender qualitativement et quantitativement les variations d'un nombre important de métabolites cellulaires fournissant ainsi une vue globale du statut biochimique d'un organisme qui peut expliquer ce phénotype. Au cours de la HR d'*Arabidopsis thaliana* infectée par *Pseudomonas syringae* pv *tomato*, le métabolisme secondaire de la plante est fortement activé entraînant l'accumulation ou la diminution d'un nombre important de métabolites. La signature métabolique du pathosystème considéré a été réalisée par profilage métabolique sur l'écotype Columbia et le mutant *pad3* affecté dans la biosynthèse de la camalexine. Les variations dans les teneurs en dérivés phénylpropanoïdes, indoles et flavonoïdes seront présentées et discutées en relation avec les phénotypes respectifs des plantes.

Poster n° 5

Diversité des systèmes de défenses de la Vigne en réponse à des éliciteurs biotiques et abiotiques

J. Bouscaut (1), S. Hamdi.(2), J.-M. Mérillon (3)? M.-F. Corio-Costet (1)

(1) U.M.R. 1065 Santé Végétale, INRA-Bordeaux, BP81, 33883 Villenave d'Ornon

(2) UMR PBV- IBVM-INRA-Bordeaux

(3) UFR des Sciences Pharmaceutiques-Bordeaux

Les principaux pathogènes de la Vigne, *Erysiphe necator* et *Plasmopara viticola*, deux parasites biotrophes stricts, nécessitent une lutte chimique systématique afin de contenir leur développement épidémique.

En absence de méthodes standardisées afin d'évaluer l'efficacité d'inducteurs des défenses de la Vigne sur le développement des pathogènes, une méthodologie spécifique à chaque pathogène a été définie. Nos études montrent que *Plasmopara viticola* semble être plus sensible que *Erysiphe necator* à une élicitation extemporanée des défenses de la Vigne, réalisée par du BTH, du PK2 ou du Fosétyl d'aluminium. De plus, la diversité de l'oïdium intergroupe montre que les souches de biotype B (hivernant sous forme sexuée) sont plus sensibles aux défenses de la plante que les souches de biotype A (hivernant sous forme asexuée).

Des analyses biochimiques, par HPLC, d'extraits de composés polyphénoliques issus de feuilles de Vigne stimulées ou inoculées, ont conduit à l'obtention de profils chromatographiques particuliers selon la modalité considérée. Ainsi, les composés phénoliques synthétisés, ou accumulés, sont caractéristiques du pathogène (comme la synthèse de resvératrol suite à une attaque par *Plasmopara viticola*) ou de la nature de l'inducteur.

Enfin, afin de corrélérer les résultats précédents avec les niveaux d'induction de gènes inhérents aux voies de défenses et de biosynthèse des anthocyanes, une approche moléculaire, par RT-PCR semi quantitative, a été réalisée. Outre une signature moléculaire se révélant être caractéristique du pathogène considéré, les profils d'induction des gènes observés se présentent être également représentatifs de l'éliciteur considéré.

Ainsi, la spécificité de réponse de la Vigne, selon l'induction, doit être prise en compte pour le développement de l'utilisation de stimulateurs des défenses naturelles de la Vigne.

Mots clés : *Erysiphe necator*, *Vitis vinifera*, éliciteur, polyphénols, défenses des plantes, expression de gènes, protocole standardisé.

Poster n° 6

Modulation de la biosynthèse des trichothécènes B de *Fusarium* par les acides phénoliques

A.-L. Boutigny (1) (2), N. Ponts (2), L. Pinson-Gadais (2), V. Atanasova-Penichon (2), C. Barreau (2), F. Richard-Forget (2)

(1) IRTAC, 67 boulevard Richard Lenoir - 75011 Paris

(2) INRA, Centre de Bordeaux, UR MycSA, 71 avenue Edouard Bourleaux - 33883 Villenave d'Ornon cedex

La présence du champignon microscopique *Fusarium* sur les céréales entraîne des pertes de rendement aux champs et une altération de la qualité des grains. Certaines espèces de *Fusarium* sont susceptibles de synthétiser des mycotoxines, métabolites secondaires toxiques, qui s'accumulent dans les grains. Du fait de la présence de mycotoxines dans les grains, et compte tenu des quantités journalières de céréales consommées, un problème de santé publique est soulevé. *Fusarium culmorum* et *fusarium graminearum* sont les principales espèces toxigènes sur blé en Europe. Parmi les mycotoxines produites par *Fusarium*, on retrouve essentiellement les trichothécènes de type B qui sont décrits comme très thermostables et sont donc difficiles à éliminer lors des procédés agro-alimentaires. Leur biosynthèse n'est pas ou très peu maîtrisable au champ. Actuellement, la seule alternative pour réduire la présence des mycotoxines de *Fusarium* dans les céréales est d'agir au champ, en amont de leur biosynthèse. Le choix variétal est un des facteurs susceptibles de moduler les niveaux de contamination des grains. Si des variétés résistantes à la fusariose ont été identifiées chez le blé tendre, ce n'est pas le cas pour le blé dur. Cependant, il a été montré l'existence d'une gamme de sensibilité à la mycotoxinogénèse chez le blé dur. Ces différences de sensibilité pourraient être liées à des compositions biochimiques différentes. Parmi les composés du grain susceptibles de moduler la biosynthèse des trichothécènes de type B, les acides phénoliques, majoritairement présents dans les sons de blé sous forme libre ou liée aux parois cellulaires, sont fortement suspectés. Lors de l'infection du grain de blé par *Fusarium*, les acides phénoliques, liés dans des complexes polysaccharidiques, seraient progressivement libérés sous l'action d'enzymes fongiques ou de la plante en réponse à l'infection. Dans ce contexte, l'étude *in vitro* de l'effet de différents acides phénoliques (acides férulique, *p*-coumarique, vanillique, caféique, syringique, *p*-hydroxybenzoïque et protocatéchuic) sur les niveaux de production de trichothécènes B par 9 souches de *Fusarium* d'espèce et de chémotype différents a été menée. Les résultats obtenus montrent que ces composés ont un effet modulateur de la mycotoxinogénèse, inhibiteur ou activateur selon l'acide phénolique et selon la souche de *Fusarium* considérée. Les acides phénoliques auraient donc un rôle éventuel en tant que modulateurs des voies de biosynthèse des mycotoxines et pourraient être éligibles comme marqueurs de sélection dans le criblage de variétés de blé dur moins sensibles à la mycotoxinogénèse.

Poster n° 7

Régulation soufre chez le champignon nécrotrophe *Botrytis cinerea*

O. Frelin, G. Billon-Grand, M. Fèvre, G. Mey

Laboratoire de Génétique et Microbiologie, UMR 5122, Université Lyon 1, 10 rue Dubois, 69622 Villeurbanne

Le soufre occupe une place fondamentale dans le cycle de vie des cellules eucaryotes. L'assimilation de l'ion sulfate et son incorporation dans les composés organiques conduit à la synthèse des deux acides aminés soufrés, la cystéine et la méthionine nécessaires à la synthèse protéique. La cystéine est aussi un donneur de soufre pour la synthèse de nombreux composés essentiels comme le glutathion, les vitamines et les cofacteurs. La méthionine est à l'origine de la *S*-adénosylméthionine (AdoMet), indispensable à toutes les réactions de méthylation dans la cellule et à la synthèse des polyamines. A l'instar des sources de carbone et d'azote, les composés soufrés sont à l'origine d'une cascade de signalisation spécifique, étudiée essentiellement chez la levure et les champignons filamenteux modèles *Neurospora crassa* et *Aspergillus nidulans*.

L'objectif de notre travail est de définir les mécanismes de la régulation soufre dans le contrôle de l'assimilation des composés soufrés, en particulier la synthèse des enzymes sécrétées, par l'agent de la pourriture grise *Botrytis cinerea*.

D'une part, l'existence d'une régulation par les composés soufrés extracellulaires a été étudiée à l'aide de deux systèmes reporteurs : 1- analyse par PCR quantitative de l'expression du gène *BcMup1*, codant pour un transporteur de méthionine ; 2- mise en évidence d'une sérine protéase dans le milieu extracellulaire, par dosage de son activité enzymatique et par Western blot.

D'autre part, le gène codant pour l'activateur BcCys3, impliqué dans la régulation de l'assimilation du soufre chez les champignons, a été isolé par marche chromosomique et ensuite inactivé par une approche utilisant le RNAi. L'impact de l'extinction du gène *BcCys3* sur le métabolisme du soufre a été apprécié par la mesure de l'expression des systèmes reporteurs et la mesure de différents métabolites soufrés intracellulaires (dosage HPLC).

Ces différentes approches sont une introduction dans la compréhension du rôle physiologique de la cystéine, de la méthionine et du facteur de transcription (BcCys3) dans la régulation de l'exploitation des composés soufrés par le champignon nécrotrophe *Botrytis cinerea*.

Poster n° 8

Connaissance du métabolisme lipidique des champignons mycorrhiziens à arbuscules : l'apport décisif des cultures monoxéniques

A. Grandmougin-Ferjani, J. Fontaine, R. Durand

Laboratoire de Mycologie/Phytopathologie/Environnement, Université du Littoral Côte d'Opale, 17, avenue Blériot, BP 699, 62228 Calais cedex

Les champignons mycorrhiziens à arbuscules (MA) sont caractérisés par une très grande richesse en lipides. Ceux-ci représentent entre 45 et 72% de leur biomasse. Mais de part les difficultés de culture de ces organismes biotrophes, les études concernant le métabolisme de ces composés sont restées réduites durant de nombreuses années. Depuis une quinzaine d'années, le développement des champignons MA est possible *in vitro* en utilisant des racines transformées. Les champignons colonisent les racines et sont capables de réaliser leur cycle de vie. Ces cultures monoxéniques ont alors permis de produire de grandes quantités de matériel biologique (spores et mycelium extracinaires) compatibles avec des analyses biochimiques. De plus, ce matériel biologique est indemne, de tout autre organisme contaminant (bactéries, champignons parasites ou saprophytes) fréquemment détectés dans les parois de champignons MA. Ce type de cultures a donc permis l'établissement de leur composition en lipides (acides gras, stérols, triacylglycérols, phospholipides...) et la levée de certaines ambiguïtés liées à la présence de microorganismes contaminants (1). Des études de métabolisme ont pu alors être entreprises utilisant des précurseurs radiomarqués C¹⁴ ou C¹³. Les études avec le C¹³ ont permis d'établir comme fait marquant, que la biosynthèse des lipides de réserve tels que les triacylglycérols a lieu principalement dans le mycélium intraracinaire (Bago et al.,1999). En fournissant de l'acétate C¹⁴ à des cultures, il a pu être établi que ces organismes synthétisaient leurs propres stérols et ne les prélèvent pas directement chez leur organisme hôte (2). L'application d'inhibiteurs perturbant le métabolisme de ces composés (IBS) est envisagée afin d'approfondir nos connaissances dans cette voie de biosynthèse. Les champignons MA sont extrêmement difficiles à transformer de part leur nature coenocytique et seules des expressions transitoires des gènes GUS insérés par biolistique ont été obtenues chez *Gigaspora rosea* (Harrier et Millam 2001). Pour les mêmes raisons, aucun mutant n'est encore disponible chez les champignons MA et il n'est pas encore techniquement envisageable d'utiliser la mutagenèse dirigée pour étudier des problèmes physiologiques. C'est pourquoi l'emploi de différents IBS nous permettrait à doses sublétales d'accumuler des précurseurs biosynthétiques ou des stérols inusuels suite à un blocage de la voie de biosynthèse.

Références :

- 1- Grandmougin-Ferjani A., Fontaine J. et Durand R. (2005) Carbon metabolism, lipid composition and metabolism in arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biology, volume 4 In vitro culture of mycorrhizas, Declerck S., Strullu D. G. et Fortin A. (eds), Springer-Verlag
- 2- Fontaine J., Grandmougin-Ferjani A., Hartmann M.A. et Sancholle M. (2001) Sterol biosynthesis by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. Lipids 36: 1357-1031

Poster n° 9

Recherche de gènes impliqués dans le pouvoir protecteur des *Fusarium oxysporum* par hybridation soustractive rapide (RaSH)

F. L'Haridon, S. Aimé, C. Olivain, C. Alabouvette

UMR Microbiologie et Géochimie des sols, INRA/Université de Bourgogne, CMSE, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon Cedex

Les *Fusarium oxysporum* sont des champignons ubiquistes dans les sols. De nombreuses souches sont des agents de trachéomycoses et présentent une spécificité d'hôte étroite. Il a été démontré que les souches pathogènes d'une espèce végétale donnée, inoculées à une autre espèce lui confèrent une résistance vis-à-vis de sa fusariose spécifique. La souche Fom24, pathogène spécifique du melon protège la tomate contre sa fusariose. Un mutant de Fom24 (rev.157) obtenu par mutation insertionnelle a perdu sa capacité à protéger la tomate. Nous avons utilisé ces deux souches pour analyser les gènes différentiellement exprimés lors des interactions cellules de tomate/souche protectrice ou non protectrice. Le but de cette étude est de rechercher des gènes ayant un rôle essentiel dans le pouvoir protecteur des souches de *Fusarium oxysporum*. Nous avons développé un système *in vitro* mettant en présence des conidies germées de *F. oxysporum* et des cellules en culture pour analyser l'expression des gènes dans les premières heures de l'interaction. L'analyse est effectuée par la technique d'hybridation soustractive rapide (RaSH). Après extraction des ARN totaux dans les couples Fom24/cellules de tomate et rev.157/cellules de tomate, les ADNc sont synthétisés. Les ADNc du couple Fom24/cellules de tomate sont soustraits à ceux du couple rev.157/cellules de tomate et inversement. Sur une cinétique d'interaction de 30 min à 12 h, 56 séquences d'ADNc correspondant à des gènes différentiellement exprimés ont été isolées : 34 lors de l'interaction souche protectrice (Fom24)/cellules de tomate et 22 lors de l'interaction mutant non protecteur (rev.157)/cellules de tomate. Les séquences obtenues ont été comparées avec celles connues dans les banques de données. Les gènes surexprimés lors de l'interaction Fom24/cellules de tomate ont une correspondance majoritaire avec des gènes fongiques (24 séquences) et seulement 1 correspond à un gène de plante. En revanche les gènes surexprimés lors de l'interaction rev.157/cellules de tomate ont une correspondance majoritaire avec des gènes de plante (15 séquences) et seulement 3 ont une homologie avec des gènes fongiques. Deux séquences ayant une homologie avec des gènes de défense de plante : une endochitinase et une polyubiquitine ont été sélectionnées. Par Northern blot, nous avons vérifié le niveau d'expression de ces 2 gènes au cours de l'interaction cellules de tomate/souche protectrice et non protectrice. Pour l'endochitinase ainsi que pour la polyubiquitine nous observons une surexpression lors de l'interaction souche non protectrice (rev.157)/cellules de tomate. Par contre il existe une inhibition de l'expression de ces deux gènes lors de l'interaction souche protectrice (Fom24)/cellules de tomate. Ce sont les premiers résultats mettant en évidence une inhibition de certains gènes de défense dans le cas de la protection conférée par des souches protectrices de *F. oxysporum*. Les travaux ultérieurs visent à isoler les gènes fongiques surexprimés précocément lors des 2 types d'interaction.

Session : *INTERACTIONS MOLECULAIRES*

Poster n° 10

Formation of calcium oxalate crystals and increased levels of oxalate in tomato tissues infected by *Crinipellis perniciosa*, the Witches' Broom pathogen of *Theobroma cacao*

J.-P Marelli (1), S. Kang (1), S. Maximova (2), P. Backman (1) K.P. Gramacho (3), and M.J. Gultinan (2).

(1) Depts. Plant Pathology and (2) Horticulture, Penn State University, University Park PA 16802, UNITED KINGDOM

(3) CEPLAC/CEPEC/SEFIT Itabuna, BA, BRAZIL

The fungal pathogen *Crinipellis perniciosa* causes Witches' Broom disease on *Theobroma cacao*, and has devastated the production of cacao beans in South America. One of the main barriers to developing effective control measures is the limited understanding of the mechanisms by which the pathogen produces disease symptoms. A surrogate model of the pathosystem was developed using the solanaceous biotype of *C. perniciosa* that can infect tomato (*Lycopersicon esculentum*). Following the same synchrony as in *T.cacao*, infected tomato plants show symptoms 30 days after inoculation (DAI) in the form of stem and petiole swelling and activation of axillary meristems, corresponding to the establishment of the biotrophic phase.

To characterize this interaction at the cellular level, cross sections of diseased tissue were embedded in paraffin, sectioned and stained. Diseased tissues showed hypertrophy and hyperplasia of the vascular tissue and the cortical cells. Intercellular, biotrophic hyphae of *C. perniciosa* was found mainly in the cortex but was also present in the vascular tissue and in the pith. Interestingly, the biotrophic hyphae was often associated with calcium oxalate crystals that were produced in the inter-cellular spaces.

Levels of oxalic acid in infected plants 33, 41 and 48 DAI were analyzed using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. In diseased tomato tissue the levels of oxalic acid were respectively 50% and 65% higher 33 and 41 DAI comparatively to the non inoculated controls. The levels were not significantly different at 48 DAI which also corresponded to necrosis and yellowing of the growing tips.

The implication of oxalic acid in the interaction between *C. perniciosa* and *Lycopersicon esculentum* could have a very important role in the establishment of the biotrophic interaction by inactivating plant defense responses and sequestering cell wall calcium. Preliminary data shows that crystals are also present in infected tissue of *T. cacao*.

Poster n° 11

Transformation génétique du champignon endomycorhizien éricoïde métallo-tollérant *Oidiodendron maius*

E. Martino (1), M. Vallino (1), M. Pitet (1), C. Murat (1), P. Spanu (2), P. Bonfante (1), S. Perotto (1)

(1) Dipartimento Biologia Vegetale, Università degli Studi di Torino, Viale Mattioli 20, 10125 Torino, ITALIE

(2) Department of Biological Sciences, Imperial College London, UNITED KINGDOM

Les champignons éricoïdes colonisent les racines des plantes appartenants à l'ordre des Ericales et jouent un rôle important dans la nutrition minérale des plantes hôtes ainsi que sur leur résistance à des concentrations élevées en métaux lourds. Au sein de notre laboratoire nous avons déjà identifié plusieurs gènes qui semblent être impliqués dans la résistance aux métaux du champignon *Oidiodendron maius*. La construction de souches fongiques *knock-out* permettrait de vérifier leur rôle. Parmi les champignons mycorhiziens, il existe plusieurs espèces ectomycorhiziennes pour lesquelles un protocole de transformation est disponible, toutefois, au début de ce travail la transformation des champignons endomycorhiziens (arbusculaires et éricoïdes) n'était pas encore possible.

L'objectif de cette étude est la mise au point d'un protocole de transformation stable du champignon endomycorhizien éricoïde *O. maius*. Pour cela, la souche fongique *O. maius* Zn a été sélectionnée pour sa tolérance aux métaux lourds. Deux protocoles de transformation ont été testés : un utilisant la réalisation de protoplastes et l'autre en utilisant *Agrobacterium tumefaciens*.

Les protoplastes ont été transformés par le plasmide fongique pAN7-1, il a aussi été réalisé une co-transformation pAN7-1 et un plasmide portant le gène codant l'EGFP (*Enhanced Green Fluorescent Protein*). La transformation par *A. tumefaciens* a été réalisée avec les souches bactériennes LBA 1100 et LBA 1126. Les plasmides pUR5750 et pBIN7-1, contenant une région codante du gène de résistance à l'hygromycine contrôlée par le promoteur GPD d'*Aspergillus nidulans*, ont été respectivement utilisés comme vecteurs. La vérification de l'intégration dans le génome fongique du vecteur a été testé par PCR et *Southern Blot*.

Les deux protocoles ont permis l'obtention de transformants stables après reproduction végétative. Les analyses *Southern Blot* ont montré que la plupart des transformants obtenus par *A. tumefaciens* ne comportent qu'une seule insertion. Par contre, le protocole utilisant les protoplastes a produit majoritairement des transformants ayant plus d'une insertion. La mise en contact de souches exprimant l'EGFP et des plants de myrtilles a permis la réalisation d'endomycorhizes dans lesquelles la *Green Fluorescent Protein* s'exprime dans les filaments fongiques, permettant ainsi de suivre précisément l'invasion des racines par les champignons.

En conclusion, cette étude représente la première mise au point d'un protocole de transformation stable d'un champignon endomycorhizien. D'autre part, nous avons réalisé, pour la première fois, des photos dans lesquelles il est possible de visualiser l'expression de la *Green Fluorescent Protein* dans les filaments fongiques lors de la symbiose endomycorhizienne

Poster n° 12

Identification de gènes fongiques nécessaires à l'établissement de la symbiose entre le champignon ectomycorhizien *Hebeloma cylindrosporum* et son hôte, le pin maritime

D. Melayah, J.-P. Combier, C. Raffier, R. Marmeisse, G. Gay

Université Claude Bernard Lyon , UMR CNRS 5557 d'Ecologie Microbienne, 43 Boulevard du 11 Novembre, 69622 Villeurbanne Cedex

L'identification des fonctions géniques essentielles à l'établissement des interactions symbiotiques ectomycorhiziennes est un challenge majeur de la prochaine décennie. Chez les champignons ectomycorhiziens, des répertoires de gènes différentiellement exprimés au cours du processus symbiotique ou exprimés spécifiquement dans la structure mycorhizienne ont été identifiés et sont des candidats potentiels à l'identification de gènes du « pouvoir symbiotique ». En l'absence de systèmes permettant une investigation, à large échelle, du rôle de ces gènes dans la symbiose ectomycorhizienne, et parce que la fréquence des événements de recombinaison homologue dans les génomes d'espèces ectomycorhiziennes n'est à ce jour pas connue, une stratégie alternative repose sur la caractérisation moléculaire de mutants fongiques affectés dans le processus symbiotique.

Une collection d'environ 2000 souches du champignon ectomycorhizien *Hebeloma cylindrosporum* a été obtenue par mutagenèse insertionnelle de l'ADN-T suite à la transformation de *H. cylindrosporum* par *Agrobacterium tumefaciens*. L'analyse des phénotypes d'interaction de ces agro-transformants vis-à-vis de l'hôte habituel, le pin maritime a révélé deux classes majoritaires de mutants : ceux pour lesquels le processus symbiotique est fortement altéré (18 mutants) et ceux totalement non mycorhiziens (2 mutants). Tous les mutants caractérisés présentent une intégration unique de l'ADN-T dans leur génome, suggérant que cette insertion est sans doute à l'origine du phénotype. L'analyse moléculaire des sites d'intégration de l'ADN-T des mutants indique que les intégrations de l'ADN-T se produisent aléatoirement dans le génome de *H. cylindrosporum*, avec toutefois un schéma préférentiel (plus de 75 % des cas) dans les séquences régulatrices amont des gènes (promoteur ou 5' UTR). Par ailleurs, le séquençage des bordures génomiques des insertions nous fournit l'information nécessaire pour cloner les allèles sauvages des gènes inactivés. À terme, la caractérisation moléculaire des mutants, couplée à l'analyse de leur transcriptome, pourra nous fournir une vision globale des grandes fonctions impliquées et régulées lors de l'établissement de la symbiose.

Poster n° 13

Validation d'une méthode de phénotypage réalisée sur disques foliaires pour l'étude de la résistance de la vigne au mildiou

S. Merdinoglu (1), P. Coste (1), R. Eibach (2), D. Merdinoglu (1)

(1) UMR INRA-ULP Santé de la Vigne et Qualité du Vin. F - 68021 Colmar Cedex

(2) BAZ-Institut for Grapevine Breeding Geilweilerhof. D - 76833 Siebeldingen

Tous les cépages de vigne traditionnels, appartenant à l'espèce *Vitis vinifera*, nécessitent de l'ordre de 8 à 12 traitements phytosanitaires par an pour contrôler le mildiou, une des principales maladies foliaires. Le mildiou est causée par l'oomycète *Plasmopara viticola*. Ces traitements ont des conséquences économiques, sur la qualité des vins, sur l'environnement et sur la santé humaine. Un enjeu socio-économique majeur réside donc dans l'obligation de développer une viticulture limitant fortement les applications de fongicides et plus respectueuse de l'environnement. Une des voies pour répondre à cet enjeu est la création de variétés de vigne résistantes au mildiou. Bien que *V. vinifera* soit sensible au mildiou, de nombreuses sources de résistance existent dans les espèces du genre *Vitis* et dans l'espèce *Muscadinia rotundifolia* ce qui permet d'envisager la construction de nouvelles variétés par une stratégie de pyramidage de gènes ou de QTLs de résistance.

La démarche consiste à réaliser un inventaire des sources de résistance disponibles afin d'identifier des sources de résistance potentielles. Le déterminisme génétique de la résistance de chaque source ainsi choisie est alors étudié à l'aide d'une population ségrégant issue d'un croisement entre le parent résistant et un parent sensible par génotypage et phénotypage de chaque individu. L'évaluation phénotypique de populations d'étude destinées à la cartographie génétique et à la cartographie fine de gènes et de QTLs de résistance présente des contraintes biologiques et méthodologiques importantes comme la taille importante des effectifs, la disponibilité d'un ensemble d'outils d'évaluation de la résistance et l'interaction avec une résistance ontogénique.

Dans cet objectif, nous avons développé une méthode de phénotypage en condition contrôlée de laboratoire réalisée sur des disques foliaires, inoculés artificiellement par un inoculum d'agressivité connue. Le stade de développement de la plante, l'étage des feuilles prélevées, les conditions d'inoculation du pathogène, les conditions d'incubation ont été définies afin d'obtenir une bonne reproductibilité des résultats. Une quinzaine de paramètres de résistance de type qualitatif, semi-quantitatif et quantitatif liés principalement à la sporulation du pathogène et à la réponse nécrotique de la plante ont été développés.

Afin de valider cette méthode, nous avons testé une population de 150 génotypes issue d'un croisement entre deux parents partiellement résistants. Cette population a été évaluée sur plusieurs années, en conditions naturelles d'infection au vignoble, en Allemagne. Ces données sont comparées aux données de phénotypage obtenues d'une part avec la méthode utilisant des disques foliaires et d'autre part avec une méthode pour laquelle des plantes entières ont été conduites dans les mêmes conditions d'inoculation et d'incubation que la méthode décrite ci-dessus. Les mêmes critères d'évaluation ont alors été utilisés.

Poster n° 14

Vers la caractérisation d'un gène du champignon *Hebeloma cylindrosporum*, indispensable dans l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne

C. N'Gari-Olémi, D. Melayah, P. Rasooli, C. Raffier, R. Marmeisse, G. Gay

Université Claude Bernard Lyon , UMR CNRS 5557 d'Ecologie Microbienne, 43 Boulevard du 11 Novembre, 69622 Villeurbanne Cedex

Les interactions symbiotiques entre les racines des arbres avec les champignons ectomycorhiziens jouent un rôle majeur dans le fonctionnement des écosystèmes forestiers tempérés, en permettant, entre autres, d'améliorer la nutrition des plantes et en stimulant ainsi leur croissance. Ces symbioses nécessitent la différenciation d'ectomycorrhizes, nouveaux organes où les deux partenaires interagissent afin de permettre des échanges nutritionnels bidirectionnels. La formation des ectomycorrhizes est un processus hautement régulé impliquant des bouleversements profonds de l'expression des génomes des deux partenaires. Pour identifier les fonctions géniques recrutées lors de la formation de ces structures, une collection de mutants insertionnels a été obtenue au laboratoire, par transformation du champignon *Hebeloma cylindrosporum* par *Agrobacterium tumefaciens*.

Le criblage phénotypique de ces transformants a permis d'identifier des mutants non mycorhiziens. La caractérisation phénotypique et moléculaire de l'un d'eux est en cours et sera présentée ici. Ce mutant présente une seule intégration de l'ADN-T dans son génome. Les séquences flanquant l'ADN-T ont été amplifiées par TAIL-PCR et par « vectorette », ce qui a permis de caractériser le site d'insertion et de montrer que contrairement à la région LB, une partie de la région RB de l'ADN-T n'a pas été conservée lors de l'insertion. Les étapes suivantes de la caractérisation moléculaire viseront à pleinement identifier le gène inactivé. La caractérisation phénotypique en cours permettra de préciser à quel stade du processus symbiotique ce mutant est bloqué.

Poster n° 15

Etude du rôle d'une F-box dans les mécanismes de défense chez *Vitis vinifera* et *Arabidopsis thaliana*

S. Paquis, A.-L. Varnier, S. Dorey, F. Mazeyrat-Gourbeyre, S. Dhondt-Cordelier, C. Clément, F. Baillieul

Laboratoire de Stress, Défenses et Reproduction des Plantes, URVVC EA 2069, Université de Reims, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2

Une approche de differential display sur le modèle d'interaction vigne/ *Botrytis cinerea* a permis de mettre en évidence la régulation de différents gènes de la plante. Parmi ceux-ci la séquence complète d'un gène (*V.v24.1*) codant pour une protéine F-box à motif kelch a été caractérisée. Les protéines F-box sont ubiquitaires chez les Eucaryotes, un bon nombre d'entre elles interviennent comme composant du complexe SCF (Skip, cullin, F-box) impliqué dans le processus de protéolyse médié par le système ubiquitine/protéasome 26S. Nous avons dans un premier temps étudié la régulation du gène *V.v 24.1* ainsi que celle de son orthologue *A.t 24.1*, chez *A. thaliana*, dans les mécanismes de défense. Les deux F-box, bien que très proches d'un point de vue structural, ne semblent pas être régulées par les mêmes stress biotiques et abiotiques. La F-box de vigne est régulée suite à un stress UV, à l'attaque par *B. cinerea*, agent nécrotrophe, et par *Pseudomonas syringae pv pisi*, agent biotrophe, ou suite à un traitement par le méthyl-jasmonate (MeJA) et l'acide salicylique (AS). L'orthologue chez *A. thaliana* est régulé par l'attaque par des pathogènes biotrophes, tels que *P. syringae pv tomato* (interactions compatible et incompatible) ainsi que par le traitement à l'AS ; alors que les UV, l'attaque par *B. cinerea* et le traitement par le MeJA semblent n'avoir aucun effet sur son expression. Les deux protéines F-box pourraient jouer un rôle dans la régulation des mécanismes de défense de la plante, mais à des niveaux différents.

Dans un second temps une étude fonctionnelle basée sur l'étude de mutant d'*A. thaliana* et l'expression transitoire chez le tabac de la F-box de vigne permettra de préciser son importance dans les mécanismes de défense et, à long terme de démontrer son rôle éventuel dans le processus d'ubiquitination en caractérisant les protéines cibles interagissant avec la F-box et son implication potentielle dans le complexe SCF.

Poster n° 16

Mécanismes moléculaires de la résistance du caféier à l'agent de la rouille orangée: caractérisation du gène *CaWRKY1*

A.-S. Petitot, D. Ganesh, A.-C. Lecouls, D. Fernandez

IRD, UMR 1097 Diversité et Génome des Plantes Cultivées, Equipe Résistance des Plantes, 911, avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5

L'interaction entre le caféier (*Coffea* sp. L.) et le champignon biotrophe *Hemileia vastatrix*, agent de la rouille orangée, est basée sur une relation gène - à - gène. Neuf gènes de résistance ont été identifiés chez l'espèce allotetraploïde *Coffea arabica* et les autres espèces de caféier diploïdes apparentées. En situation d'incompatibilité, une réaction de type hypersensible peut être visualisée dès 24 h après l'inoculation du champignon. Pour identifier et caractériser les gènes associés à la résistance de *C. arabica*, des banques soustractives ont été réalisées 12, 24 et 48 h post-inoculation et un catalogue d'environ 800 EST a été établi.

Parmi les gènes candidats sélectionnés par tri différentiel des ESTs, un clone présentant de fortes similarités avec un facteur de transcription de type WRKY a été identifié. Le clonage du gène correspondant a permis d'isoler deux séquences dénommées *CaWRKY1a* et *CaWRKY1b*. Les protéines putatives *CaWRKY1a* (573 aa) et *CaWRKY1b* (572 aa) possèdent les caractéristiques structurales (domaine WRKY, Leucine zipper, signal de localisation nucléaire) des facteurs de transcription WRKY et se classent dans le groupe II-b des facteurs WRKY d'*Arabidopsis thaliana*. Les séquences promotrices possèdent 76% d'homologies et contiennent plusieurs boîtes W suggérant une régulation de ces gènes par d'autres facteurs de transcription de type WRKY. Enfin, une analyse phylogénétique du gène dans le genre *Coffea* suggère que chacune des deux copies appartiendrait à un des deux anciens sous-génomes diploïdes de *C. arabica* et qu'il s'agirait de deux copies homéologues.

Les niveaux de transcrits des deux gènes ont été quantifiés par qPCR. Les résultats ont montré une induction précoce des 2 gènes, dès 9 h après inoculation par *H. vastatrix*, et une surexpression dans l'interaction incompatible par rapport à l'interaction compatible. Les 2 gènes sont aussi rapidement induits par blessure et par l'acide salicylique. Ils sont régulés de manière similaire en conditions de stress biotique et abiotique ce qui semble exclure l'hypothèse d'une divergence fonctionnelle des deux copies.

Poster n° 17

Impact de produits éliciteurs sur le métabolisme des oxylipines lors d'une interaction compatible blé/*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*

D. Renard (1), P. Reignault (1), F. Laruelle (1), E. Nowack (2), R. Durand (1)

(1) Laboratoire "Mycologie-Phytopathologie-Environnement", Université du Littoral Côte d'Opale, B.P. 699, 62228 Calais Cedex

(2) Laboratoire d'Informatique et de Statistiques, Institut Supérieur d'Agriculture de Lille, 48 Boulevard Vauban, 59046 Lille Cedex

Plusieurs processus enzymatiques et cytologiques, menant notamment à l'augmentation du métabolisme des formes activées de l'oxygène, sont étudiés au sein de notre laboratoire dans le cadre de l'élicitation des réactions de défenses par différents éliciteurs chez le blé. Selon les expériences, la plante est confrontée ou non à l'infection par *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*. La présente étude est principalement axée sur les mécanismes mis en jeu d'un point de vue lipidique, suite à la seule application de quatre substances élicitrices distinctes (Iodus 40®, Milsana®, salicylyl heptanoate ou SH, et tréhalose), ou bien suite à la combinaison entre traitements et inoculation par l'agent pathogène (Randoux *et al*, 2006).

Nous avons tout d'abord dressé un bilan global, quantitatif et qualitatif, de l'impact sur les profils d'acides gras de la plante des traitements et/ou des inoculations. Par ailleurs, ces différents traitements et/ou inoculations entraînent chez la plante un stress membranaire. En effet, les éliciteurs et l'agent pathogène engendrent une bio-détérioration des membranes et l'action immédiate d'une lipase. Cette enzyme permet la libération d'acides gras (acides linoléique et linolénique) utilisés comme substrats préférentiels pour l'activité lipoxygénase. Nous avons montré que la LOX est essentiellement activée au cours d'un traitement par le SH et catalyse la peroxydation des lipides. La méthode TBARS qui permet de quantifier la production de malonaldéhyde (MDA) qui résulte de la peroxydation lipidique, montre que le SH entraîne une augmentation de la peroxydation des lipides à partir du quatrième jour après traitement. L'effet du Milsana® et du Iodus 40® est en revanche visualisé plus précocement, sous forme d'une diminution de la concentration en MDA.

Les hydroperoxydes lipidiques obtenus au cours de la peroxydation peuvent être convertis en oxylipines qui correspondent à une étape transitoire du métabolisme lipidique. Ces oxylipines empruntent en général l'une de ces deux voies : celle des keto-diènes ou celle des allènes oxides, qui correspond à la voie de synthèse de l'acide jasmonique. Une quantification de ce dernier par chromatographie en phase gazeuse permettra de montrer l'impact des traitements et/ou de l'inoculation sur la formation de l'acide jasmonique au cours de l'interaction.

Références :

Randoux B., Renard, D., Reignault, Ph, Sanssené, J., Nowack, E., Courtois, J., Durand, R. Activités élicitrice et protectrice de substances d'origine naturelle lors d'une interaction compatible blé/*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*. Sixièmes rencontres de Phytopathologie/Mycologie-Journées Jean Chevaugéon 2006, Aussois.

Poster n° 18

Caractérisation du pathosystème *Medicago truncatula* – *Fusarium oxysporum* f.sp. *medicaginis*

M. Rickauer

Laboratoire Biotechnologie et Amélioration des Plantes, INP-ENSAT, Pôle de Biotechnologie Végétale, 18 chemin de Borde-rouge, BP 32607 Auzeville, 31326 Castanet-Tolosan

La légumineuse modèle *Medicago truncatula* est capable d'établir au niveau de ses racines des relations aussi bien symbiotiques (*Sinorhizobium meliloti*, mycorhizes) que pathogènes. Ainsi cette plante-hôte permet de réaliser des études comparatives afin de comprendre les mécanismes qui régulent localement l'acceptation d'un micro-organisme symbiotique tout en gardant la capacité de la plante à se défendre contre des micro-organismes pathogènes.

Une première étape pour ces études constitue la caractérisation d'un pathosystème racinaire. *Fusarium oxysporum* est un champignon du sol infectant de nombreuses espèces végétales, chez lesquelles il cause la maladie du flétrissement vasculaire. La forma spécialis "*medicaginis*" est connue d'infecter la luzerne, *M. sativa*. Nous avons étudié plusieurs souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *medicaginis* (*Fom*) isolées de Luzerne ; toutes étaient capables d'infecter *M. truncatula*, et toutes les lignées de la plante étudiées se sont avérées sensibles au champignon.

Afin de suivre les étapes de la colonisation de la racine, un des isolats de *Fom* a été transformé par le gène marqueur *gfp* à l'aide d'*Agrobacterium tumefaciens*.

Les premiers résultats de ces études seront présentés.

Poster n° 19

Stimulation des défenses naturelles des plantes par l'éléciteur *Stifenia*®

C. Siddi (1), P. Marmey (2), J.-P. Renou (4), J.-C. Baccou (1), M. Nicole (2), C. Martinez 3)

- (1) UMR IR2B, Université Montpellier II, 34095 Montpellier
(2) IRD UMR DGPC, Unité "Résistance des plantes", 34394 Montpellier
(3) Société Occitane de Fabrication et de Technologies (SOFT), 11210 Port La Nouvelle
(4) URGV, UMR INRA 1165 - CNRS 8114 – UEVE, 91057 Evry

L'Université, en collaboration avec la société SOFT a mis au point *Stifenia*®, un nouvel éléciteur issu de graines de légumineuses, qui répond aux préoccupations environnementales actuelles.

Son efficacité est testée sur plusieurs modèles plantes/ agents pathogènes, choisis pour la diversité du mode d'action de ces derniers (infections foliaires ou racinaires) : *Cucumis melo/ Sphaerotheca fuliginea*, *Cucumis melo/ Fusarium oxysporum sp. melonis*, *Cucumis melo/ Pseudomonas syringae pv. aptata*, *Gossypium hirsutum / Xanthomonas campestris pv. malvacearum*, *Arabidopsis thaliana/ Golovinomyces cichoracearum*, *Arabidopsis thaliana/ Fusarium oxysporum sp. Rafani*, *Arabidopsis thaliana/ Pseudomonas syringae pv. tomato* (étude encore en cours suivant les modèles). Nos résultats montrent que la pulvérisation foliaire de FEN560 protège les plantes contre l'apparition des symptômes de la maladie, pendant un mois environ. Le traitement par pulvérisation de l'éléciteur induit le phénomène de priming, après infection par l'agent pathogène. En effet, chez les plants prétraités par *Stifenia*®, on observe une induction plus rapide et plus intense des mécanismes de défense (activité peroxydase et production d'acide salicylique) au site d'infection de l'agent pathogène.

L'étude des gènes induits suite à l'utilisation de *Stifenia*® sur le modèle *Arabidopsis thaliana/ Fusarium oxysporum sp. Rafani* est en cours, grâce à l'utilisation de puce à ADN Catma, en partenariat avec l'INRA d'Evry. En parallèle, nous essayons de mettre en évidence l'induction d'une mort cellulaire programmée, suite à l'infection par l'agent pathogène des plants prétraités par *Stifenia*®. Une purification du(ou des) principe(s) actif(s) de *Stifenia*®, est aussi en cours de réalisation, dans le but d'étudier par la suite la reconnaissance de cette molécule par la plante.

Poster n° 20

Effect of Truffle Volatiles on the Development of *A. thaliana*

R. Splivallo, S. Bossi, M. Maffei, P. Bonfante

Department of Plant Biology, University of Torino, ITALIE

Plant/truffle interactions are currently analyzed by using molecular methods to investigate the changes taking place in both organisms at the level of gene and protein differential expression. We decided to study this interaction by investigating what effect volatile organic compounds (VOCs) emitted by truffles could produce on the model plant *Arabidopsis thaliana*. Truffles, ascomycetes fungi, were chosen on three grounds (i) their hypogeous fruitbodies release a blend of VOCs in the rhizosphere that can interact with plants roots; (ii) a large body of knowledge already exists about those VOCs in literature; (iii) many VOCs emitted by truffles are also common to most fungi and are therefore of major ecological importance.

The aim of this work was double:(i) to test the effect of the VOCs (blend from fruitbodies and single synthetic VOCs) on *A. thaliana* using a compartmented Petri system where the fungus and plants were interacting only through VOCs; (ii) to identify the bioactive VOCs (using head space stir bar sorptive extraction coupled to GC/MS). The major VOCs from three truffle species (*Tuber borchii*, *T. melanosporum*, *T. indicum*) included 2-methyl-1-propanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol, 1-octen-3-ol, 3-octanone, phenylethyl alcohol and 1-hexanol.

The VOCs blend released directly from the fruitbodies induced strong root shortening for all three truffle species (up to 75% versus control), and in the case of two species (*T. melanosporum* and *T. borchii*) germination inhibition and a strong bleaching (white hypocotyls and cotyledons) for the germinated seedlings. The effects of the synthetic single VOCs on *A. thaliana* are currently under investigation to understand which one is/are responsible of the effects described above with the fruitbodies.

Further work shall be done by testing VOCs mixtures (the ones listed above) to highlight their synergic/antagonistic effect, and get a better feel for what their threshold of action could be in nature.

Poster n° 21

L'histidine kinase BOS1 est impliquée dans le développement, l'osmorégulation, la résistance aux fongicides et la virulence chez *Botrytis cinerea*

M. Viaud (3), W. Liu (1), J. S. Polepalli (2), L. Legendre (2), P. Leroux (1), S. Fillinger (1)

(1) UPMC, INRA Versailles, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles

(2) Centre for Horticulture and Plant Sciences, University of Western Sydney, Locked bag 1797, Penrith South DC, NSW 1797, AUSTRALIE

(3) PMDV, INRA Versailles, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles

Le champignon phytopathogène *Botrytis cinerea*, l'agent de la pourriture grise, cause d'importantes pertes sur plus de 200 espèces végétales. L'utilisation de fongicides reste le principal moyen de lutte efficace contre cette maladie. Cependant, l'utilisation d'anti-*botrytis* de type dicarboximides a entraîné l'apparition de résistance (*ImiR*) au champ. Des isolants *ImiR* du laboratoire présentent en plus une résistance aux phénylpyrroles et une osmosensibilité, mais ils n'ont jamais été détectés dans la nature. La plupart des mutations *ImiR* affectent l'histidine kinase BOS1.

Afin de mieux comprendre le rôle de ce gène, nous avons entrepris une étude détaillée des mutants d'inactivation (Δ *bos1*). Ceux-ci ne sporulent pas *in vitro*, mais la formation des conidiophores n'est pas affectée. Ceci suggère que BOS1 n'a pas d'effet sur l'initiation de la conidiation, mais qu'il est nécessaire pour la différenciation. Les mutants Δ *bos1* sont sensibles au stress osmotique, résistants aux trois types des fongicides (dicarboximides, phénylpyrroles et hydrocarbures aromatiques) et cross résistants au ménadione. Mais ils ne sont pas sensibles à d'autres conditions de stress. De plus, une forte réduction du pouvoir pathogène a été observée chez ces mutants Δ *bos1* par rapport à la souche parentale. L'analyse par microscopie a démontré que la délétion du gène *bos1* n'affecte pas la capacité de pénétration. L'ensemble de nos résultats a mis en évidence l'implication de l'histidine kinase BOS1 dans la résistance à certains fongicides, la réponse au stress osmotique, le développement asexuel et le processus infectieux de *B. cinerea*. D'ailleurs nous avons démontré que les fongicides induisent l'accumulation du glycérol intracellulaire chez *B. cinerea* via la cascade de signalisation BOS1.

En parallèle, le gène *sak1* a été cloné et inactivé au laboratoire de P. Tudzynski à l'Université de Münster en Allemagne. Etant donné que le gène *sak1* code une MAP kinase orthologue à celles impliquées dans la transduction du signal osmotique et que les mutants Δ *sak1* présentent une hypersensibilité au stress osmotique, une absence de la sporulation et de la virulence, nous supposons que la MAP kinase Sak1 et l'histidine kinase BOS1 agissent dans la même voie de cascade de signalisation. De plus, le test de la croissance montre que les mutants Δ *sak1* sont plus sensibles aux fongicides que la souche sauvage suggérant que l'histidine kinase BOS1 agit comme inhibiteur de la MAP kinase Sak1. Le double mutant est en cours de construction pour un test d'épistasie afin de mettre en évidence l'interaction entre Sak1 et BOS1.

Poster n° 22

ESCA disease affects photosynthesis in grapevine generating stomatal closure and alteration of the photosynthetic apparatus

A.-N. Petit (1), N. Vaillant (1), M. Boulay (2), C. Clément (1), F. Fontaine (1)

(1) Laboratoire de Stress, Défenses et Reproduction des Plantes, URVVC UPRES EA 2069, Université de Reims Champagne-Ardenne, UFR Sciences, Moulin de la Housse, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2

(2) Moët et Chandon Recherche, 6 rue Croix de Bussy, 51200 Epernay

To further understand the development of wood decay disease in grapevine, its physiological impact on plants grown in vineyard was characterized, focusing mainly on photosynthesis. For this purpose, photosynthetic apparatus state was evaluated in leaves differentially affected by symptoms and wood carbohydrates stored in annual canes were assayed.

Foliar symptoms were characterized by both stomatal closure and alteration of the photosynthetic apparatus, as revealed by (i) a decrease in CO₂ assimilation, transpiration and a Ci significant increase (ii) a strong drop in both Fm' and ΦPSII and (iii) a reduction of total chlorophyll but a stable carotenoid content. On symptomatic canes, all these parameters were more affected on leaves with symptoms rather than without symptoms, suggesting a gradation in photosynthesis disruptions in the plant according to the degree of plant affection. Besides, canes of symptomatic plants presented a reduction of carbohydrate reserves during the winter rest, whether they exhibit symptoms or not. The year after, the lower pool of reserves conducts to a significant decrease in flower and fruit formation, as well as a global loss in plant vigour.

Despite the absence of fungi in symptomatic leaves and annual canes, esca affected deeply grapevine physiology, suggesting that related fungi growing in the perennial wood generate symptoms in leaves through a signal (toxin ?) which is transported from the wood to the annual organs.

Poster n° 23

DK 530 650

Purification et analyse de structure de la Cassiicoline, déterminant majeur de la pathogénicité de *Corynespora cassiicola* chez l'hévéa

C. Sanier (1), M.-P. Duviau (2), F. Breton (3), P. Barthe (4), J. Poncet (5), C. Roumestand (4), F. de Lamotte (2), **V. Pujade-Renaud (1)**

(1) CIRAD, UMR PIA, TA 80 / 03, Avenue Agropolis, 34398 Montpellier Cedex 5

(2) INRA, 2, place Viala, Bât 31, 34060 Montpellier Cedex 01

(3) CIRAD, PP London Sumatra Indonesia, Bah Lias Research Station, Jl Jend A Yani No 2, PO Box 1154, Medan 20011, INDONESIE

(4) Centre de Biochimie Structurale, UMR UM1 / 5048 CNRS / 554 INSERM, Faculté de Pharmacie, BP 14491, 15, avenue Charles Flahault, 34093 Montpellier Cedex 5

(5) Institut de Génomique Fonctionnelle, 141, rue de la Cardonille, 34094 Montpellier Cedex 5

Corynespora cassiicola est un champignon phytopathogène nécrotrophe qui provoque des lésions nécrotiques sur la plupart des organes des plantes infectées. Des cas d'infection par *C. cassiicola* ont été décrits chez plus de 70 plantes hôtes, parmi lesquelles la tomate, le concombre, le coton, le soja ou l'hévéa. Dans le cas de l'hévéa, la pathologie induite par *C. cassiicola* (CLFD, ou « *Corynespora* Leaf Fall Disease ») se manifeste par des lésions aussi bien sur jeunes feuilles que sur feuilles matures, un noircissement des nervures donnant un profil typique en « arrêtes de poisson », et des défoliations massives pouvant conduire à la mort de l'arbre. La CLFD est en constante progression dans toutes les zones de production. Une étape importante pour la compréhension des mécanismes d'infection de l'hévéa par *C. cassiicola* fut la mise en évidence d'un toxine, baptisée cassiicoline, présente dans le milieu de culture du champignon, et qui semble être un facteur de pathogénicité déterminant.

Nous avons purifié un lot de cassiicoline jusqu'à homogénéité complète à partir d'un isolat de *C. cassiicola* agressif sur hévéa (souche CCP). Le procédé de purification comporte une étape de chromatographie en phase réverse suivie d'une étape de chromatographie par exclusion de taille, chaque étape faisant l'objet d'un biotest sur feuilles d'hévéa détachées. Des analyses par microséquençage, spectrométrie de masse et RMN nous ont permis d'établir avec précision la structure de la cassiicoline. Il s'agit d'une petite protéine glycosylée de 2885 Da qui, après analyse comparative avec les bases de données publiques de séquence et structure tridimensionnelle, ne présente aucun homologue connu. Une analyse similaire est en cours à partir d'un deuxième isolat d'origine géographique différente afin de déterminer si la variabilité des souches en terme d'agressivité peut être attribuée à des différences de structure de la toxine produite.

Poster n° 1

Construction de mutants optimisés pour la recombinaison homologue chez *Botrytis cinerea*

M. Choquer, C. Levis, M. Viaud

INRA Centre de Versailles-Grignon, PMDV, Rte de St-Cyr, 78086 Versailles

Botrytis cinerea est un des principaux champignons pathogènes de la vigne. Il est responsable de pertes estimées entre 15-40% des récoltes selon les conditions climatiques pour la viticulture française. Ce champignon également connu pour sa grande polyphagie (>200 plantes hôtes) sert de modèle d'étude du processus infectieux. L'utilisation de fongicides demeure le meilleur moyen de lutte contre ce champignon, mais l'apparition de souches résistantes au champ nous contraint à rechercher de nouvelles cibles antifongiques.

Notre équipe participe au pilotage du projet génome de *B. cinerea* et se focalise sur son analyse fonctionnelle. A l'issue du séquençage du génome, réalisé au Genoscope, les analyses de génomique comparative et de transcriptome vont permettre d'identifier un ensemble de gènes potentiellement impliqués dans le processus infectieux ou encodant des fonctions cellulaires d'intérêt, et qui seront analysés par génétique inverse. Cependant, les techniques classiques de transformation des champignons filamenteux ne permettent pas d'obtenir plus de 20% de recombinaison homologue chez *B. cinerea* ce qui rend difficile l'obtention de mutants à un locus souhaité. Il apparaît indispensable de développer une solution alternative permettant de réduire la fréquence d'apparition des insertions ectopiques. Ceci permettrait également de pouvoir aller jusqu'à l'inactivation de plusieurs gènes en simultané, et d'obtenir par exemple des doubles ou des triples mutants en n'effectuant qu'une seule transformation. Nous nous proposons dans cet objectif de construire une souche mutante de *B. cinerea* qui serait optimisée pour la recombinaison homologue et qui servirait de souche réceptrice pour inactiver d'autres gènes comme cela a été récemment décrit chez *Neurospora crassa* (Ninomiya et al., 2004) et reproduit chez *Magnaporthe grisea* (MH. Lebrun, Comm. Pers.).

Chez les eucaryotes, les cassures double-brin de l'ADN (DSBs : DNA Double-Strand Breaks) sont réparées par deux mécanismes principaux : la jonction précise ou imprécise des extrémités (NHEJ : Non Homologous End Joining) et la recombinaison homologue (RH). Alors que la RH est majoritaire chez la levure, les deux mécanismes sont en compétition plus étroite chez les mammifères comme chez les champignons filamenteux. Les deux protéines KU70 et KU80, initialement identifiées chez l'homme, forment un hétérodimère capable de se lier aux DSBs et d'y recruter un complexe de protéines nécessaire au NHEJ. L'inactivation des gènes homologues à Ku70 et à Ku80 chez *N. crassa* a permis de supprimer la NHEJ et d'obtenir le résultat surprenant de 100% de RH chez ces mutants. Nous avons donc opté pour la même stratégie chez *Botrytis cinerea*, et les résultats obtenus seront discutés dans ce poster.

Référence :

Ninomiya Y, Suzuki K, Ishii C, Inoue H. (2004) Highly efficient gene replacements in *Neurospora* strains deficient for nonhomologous end-joining. Proc Natl Acad Sci USA. 101 : 12248-53.

LISTE DES PARTICIPANTS

AJOUZ	Sakhr	INRA - Unité de Pathologie Végétale - Domaine Saint Maurice - BP 94 - 84143 -Montfavet Cedex	Tél. 04 32 72 28 55 - Fax 04 32 72 28 42 sakhr.ajouz@avignon.inra.fr
ALLÈGRE	Mathilde	INRA - UMR 1088 - CNRS 5184 - Université de Bourgogne - Plante- Microbe-Environnement - 21065 Dijon	Tél. 03 80 69 34 85 mathilde.allegre@dijon.inra.fr
AMSELEM	Joëlle	INRA Centre de Versailles-Grignon - Unité de Recherche Génomique-Info - 91000 Evry	Tél. 01 60 87 37 22 - Fax 01 60 87 37 99 jamselem@infobiogen.fr
ARRAIANO	Lia	Disease and Stress Biology Department - John Innes Centre - Norwich Research Park - Colney Lane - Norwich - NR4 7UH - Angleterre	Tél. 44 1603 452194 - Fax 44 1603 450045 lia.arraiano@bbsrc.ac.uk
BAHRI	Bochra	INRA-INA-PG - Epidémiologie Végétale et Ecologie des Populations - BP 01 - 78850 Thiverval-Grignon	Tél. 01 30 81 54 18 bbochra@grignon.inra.fr
BAILEY	Doug	INRA Agrocampus Rennes - UMR Bio3P - BP 35327 - 35653 Le Rheu Cedex	Tél. 44 1954 268284 (ADAS) 44 1223 330229 doug.bailey@adas.co.uk
BAILLIEUL	Fabienne	Faculté des Sciences - Laboratoire de Stress - Défenses et Reproduction des Plantes - Moulin de la Housse - BP 1039 - 51687 Reims Cedex 2	Tél. 03 26 91 82 01 - Fax 03 26 91 87 10 fabienne.baillieul@univ-reims.fr
BAILLY	Julie	UMR CNRS 5557 - Equipe Symbiose Mycorhizienne - Université Claude Bernard Lyon I - 43 - boulevard du 11 novembre 1918 - 69622 Villeurbanne cedex	Tél. 04 72 44 83 02 - Fax 04 72 43 16 43 Baillyjulie@aol.com
BALLINI	Elsa	CIRAD - UMR BGPI - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 99 62 48 84 - Fax 04 99 62 48 48 ballini@ensam.inra.fr
BARBISAN	Crystel	CNRS - Bayer Cropscience - UMR 2847 Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 02	Tél. 04 72 85 25 93 christelle.barbisan@bayercropscience.com
BARDIN	Marc	INRA Centre d' Avignon - Unité de Pathologie Végétale - Domaine Saint Maurice - BP 94 - 84143 Montfavet Cedex	Tél. 04 32 72 28 55 - Fax 04 32 72 28 42 bardin@avignon.inra.fr
BARREAU	Christian	INRA Centre de Bordeaux - UR 1264 MycSA - BP 81 - 71, rue Edouard Bourleaux - 33883 Villenave d'Ornon Cedex	Tél. 05 57 12 24 82 - Fax 05 57 12 25 00 cbarreau@bordeaux.inra.fr
BARRÈS	Benoît	INRA Nancy - UMR 1136 IAM - Equipe Pathologie Forestière 54280 Champenoux	Tél. (standard) 03.83.39.40.41 - Fax 40.69 barres@nancy.inra.fr
BARTHOD	Florence	CIRAD - UPR Bioagresseurs de pérennes - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 99 62 48 40 - Fax 04 99 62 48 48 florence.barthod@cirad.fr
BELLVERT	Florian	Institut de Biotechnologie des Plantes - CNRS - Université Paris Sud - Bât 630 - 91405 Orsay Cedex	Tél. 01 69 15 33 64 - Fax 01 69 15 33 24 bellvert@ibp.u-psud.fr

BIEYSSE	2	Daniel	CIRAD - UMR BGPI - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 99 62 48 03 - Fax 04 99 62 48 48 daniel.bieysse@cirad.fr
BOURELLY	4	Geneviève	CIRAD - UMR BGPI - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 99 62 48 38 - Fax 04 99 62 48 48 genevieve.bourelly@cirad.fr
BOUSCAUT		Jérôme	INRA Bordeaux - UMR 1065 Santé Végétale - PB 81 - 33883 Villenave d'Ornon	Tél. 05 57 12 26 36 - Fax 05 57 12 26 21 jbouscau@bordeaux.inra.fr
BOUSSET-VASLIN		Lydia	INRA Centre de Rennes - UMR Bio3P - Domaine de la Motte - BP 29 - 35653 Le Rheu Cedex	Tél. 02 23 48 51 85 - Fax 02 23 48 51 80 bousset@rennes.inra.fr
BOUTIGNY		Anne-Laure	INRA Centre de Bordeaux - UR 1264 MycSA - BP 81 - 71, rue Edouard Bourleaux - 33883 Villenave d'Ornon Cedex	Tél. 05 57 12 24 85 - Fax 05 57 12 25 00 alboutig@bordeaux.inra.fr
BRUEL		Christophe	CNRS-Bayer Cropscience UMR 2847 - Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 02	Tél. 04.72.85.26.78 - Fax 04.72.85.22.97 christophe.brue@bayercropscience.com
BRUSINI		Jérémie	2 rue Porte des Portanets 33000 Bordeaux	Tél. 06 27 24 05 15 - Fax 05 57 12 26 21 Jeremie.brusini@laposte.net
CAFFIER		Valérie	INRA Centre d'Angers - UMR PaVé - 42, rue Georges Morel - BP 60057 - 49071 Beaucozéz	Tél. 02 41 22 57 23 - Fax 02 41 22 57 05 vcaffier@angers.inra.fr
CARLIER	4	Jean	CIRAD - UMR BGPI - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 99 62 48 09 - Fax 04 99 62 48 48 jean.carlier@cirad.fr
CAZAUX		Marc	UMR 5546 - Université Paul Sabatier - CNRS - Pôle de Biologie Végétale - 24, chemin de Borde-Rouge - BP42617 - Auzeville - 31326 Castanet Tolosan	Tél. 05 62 19 35 14 cazaux@scsv.ups-tlse.fr
CHALOT		Michel	INRA - UHP - UMR 1136 Interactions Arbres/Microorganismes - Université H. Poincaré Nancy I - 54506 Vandoeuvre les Nancy	Tél. 03 83 68 42 38 - Fax 03 83 68 42 92 michel.chalot@scbiol.uhp-nancy.fr
CHOQUER		Mathias	INRA Centre de Versailles-Grignon - PMDV - Route de Saint-Cyr - 78026 Versailles	Tél. 01 30 83 32 17 - Fax 01 30 83 31 95 mchoquer@versailles.inra.fr
CILAS	2	Christian	CIRAD - UPR Bioagresseurs de pérennes - Avenue Agropolis - TA 80/02 - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 67 61 56 09 - Fax 04 67 61 55 81 christian.cilas@cirad.fr
CLÉMENT		Christophe	Université de Reims - Laboratoire de Stress - Défenses et Reproduction des Plantes - URVVC EA 2069 - BP 1039 - 51687 Reims Cedex 2	Tél. 03 26 91 33 39 - Fax 03 26 91 33 39 christophe.clement@univ.reims.fr
COLLEMARE		Jérôme	CNRS - Bayer Cropscience - UMR 2847- Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 02	Tél. 04 72 85 29 12 jerome.collemare@bayercropscience.com

CORBIÈRE	Roselyne	INRA Centre de Rennes - UMR Bio3P - Domaine de la Motte - BP 29 - 35653 Le Rheu Cedex	Tél. 02 23 48 51 79 - Fax 02 23 48 51 80 Roselyne.Corbriere@rennes.inra.fr
CORIO-COSTET	Marie-France	INRA Bordeaux - UMR Santé Végétale - PB 81 - 33883 Villenave d'Ornon	Tél. 05 57 12 26 25 - Fax 05 57 12 26 21 coriocos@bordeaux.inra.fr
COTTON	Pascale	Université Claude Bernard Lyon I - UMR 5122 - Microbiologie et Génétique - 10, rue Dubois - 69622 Villeurbanne Cedex	Tél. 04 72 44 85 43 - Fax 04 72 43 11 81 cotton@biomserv.univ-Lyon1.fr
COURTY	Pierre-Emmanuel	INRA Nancy - UMR INRA / UHP 1136- IFR 110 - Interactions Arbres/Microorganismes - 54280 Champenoux	Tél. 03 83 39 40 41 (poste 4220) - Fax 03 83 39 40 69 courty@nancy.inra.fr
DANAN	Sarah	INRA Centre d'Avignon - Unité de Pathologie Végétale - Domaine Saint Maurice - BP 94 - 84143 Montfavet Cedex	Tél. 04 32 72 27 44 - Fax 04 32 72 27 02 sarah.danan@avignon.inra.fr
DEVEAU	Aurélie	INRA Nancy - UMR INRA / UHP 1136 - IFR 110 - Interactions Arbres/Microorganismes - 54280 Champenoux	Tél. 03 83 39 40 41 - Fax 03 83 39 40 69 deveau@nancy.inra.fr
DIDELOT	Frédérique	INRA Centre d'Angers - UMR PaVé - 42, rue Georges Morel - BP 60057 - 49071 Beaucozé	Tél. 02 41 22 57 24 - Fax 02 41 22 57 05 Frederique.Didelot@angers.inra.fr
DOREY	Stephan	Université de Reims - Laboratoire de Stress - Défenses et Reproduction des Plantes - URVVC EA 2069 - BP 1039 - 51687 Reims Cedex 2	Tél. 03 26 91 85 87 - Fax 03 26 91 87 10 stephan.dorey@univ-reims.fr
DOWKIW	Arnaud	INRA - Unité Amélioration Génétique et Physiologie Forestières - 2163, avenue de la Pomme de Pin - BP20619 - Ardon 45166 Olivet Cedex	Tél. 02 38 41 78 00 - Fax 02 38 41 48 09 arnaud.dowkiw@orleans.inra.fr
DROUX	Michel	CNRS - Bayer Cropscience - UMR 2847 Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 02	Tél. 04 72 85 27 96 - Fax 04 72 85 22 97 michel.droux@bayercropscience.com
DUMAS	Bernard	UMR5546 - CNRS - Université Paul Sabatier Toulouse III - 31326 Castanet-Tolosan	Tél. 05 62 19 35 03 - Fax 05 62 19 35 02 dumas@scsv.ups-tlse.fr
DUPLESSIS	Sébastien	INRA / UHP - UMR 1136 Interactions Arbres/Microorganismes - INRA Nancy - 54280 Champenoux	Tél. 03 83 39 40 13 - Fax 03 83 39 40 69 duplessi@nancy.inra.fr
DUTECH	Cyril	INRA Bordeaux - UMR BIOGECO - Equipe Pathologie Forestières BP 81 - 71, avenue Edouard Bourleaux - 33883 Villenave d'Ornon Cedex	Tél. 05 57 12 26 07 - Fax 05 57 12 26 21 cdutech@bordeaux.inra.fr
EDEL-HERMANN	Véronique	UMR Microbiologie et Géochimie des Sols - INRA - Université de Bourgogne - CMSE - 17, rue Sully - BP86510 - 21065 Dijon Cedex	Tél. 03 80 69 30 50 - Fax 03 80 69 32 24 edel@dijon.inra.fr

ENJALBERT	Jérôme	INRA-INA-PG - Epidémiologie végétale et écologie des populations - BP 01 - 78850 Thiverval-Grignon	Tél. 01 30 81 59 33 - Fax 01 30 31 53 06 enjalber@grignon.inra.fr
FAIVRE-RAMPANT	Odile	CIRAD - UMR BGPI - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 99 62 48 17 - Fax 04 99 62 48 08 odile.favre-rampant@cirad.fr
FERMAUD	Marc	UMR Santé Végétale - ENITA de Bordeaux - 71, avenue Edouard Bourleaux - BP 81 - 33883 Villenave d'Ornon Cedex	Tél. 05.57.12.26.22 - Fax 05.57.12.26.21 fermaud@bordeaux.inra.fr
FERNANDEZ	Diana	IRD - UMR 1097 Diversité et Génome des Plantes Cultivées - 911, avenue Agropolis - BP 64501 - 34394 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 67 41 62 87 Diana.Fernandez@mpl.ird.fr
FILLINGER	Sabine	INRA Centre de Versailles-Grignon - Phytopathologie et Méthodologie de la Détection - 78000 Versailles	Tél. 01 30 83 31 90 - Fax 01 30 83 31 19 fillinge@versailles.inra.fr
FISHER	Gilles	Unité de Génétique Moléculaire des Levures - Institut Pasteur - 25, rue du Docteur Roux - 75724 Paris Cedex 15	Tél. 01 44 38 94 49 - Fax 01 40 61 34 56 fisher@pasteur.fr
FONTAINE	Joël	Laboratoire de Mycologie/Phytopathologie/Environnement - Université du Littoral Côte d'Opale - 17, avenue Blériot - BP 699 - 62228 Calais	Tél. 03 21 96 48 07 - Fax 03 21 34 71 13 Joel.Fontaine@univ-littoral.fr
FRELIN	Océane	CNRS - UMR 5122 - Université de Lyon I - 10, rue Dubois - 69263 Villeurbanne	Tél. 04 72 85 27 96 - Fax 04 72 85 22 97 oceane.frelin@bayercropscience.com
FREY	Pascal	INRA Nancy - INRA / UHP - UMR 1136 - Equipe Pathofof - IFR 110 - "Génomique - Ecophysiologie et Ecologie Fonctionnelle - 54280 Champenoux	Tél. 03 83 39 40 56 - Fax 03 83 39 40 69 frey@nancy.inra.fr
FUDAL	Isabelle	INRA - Unité de Phytopathologie et Méthodologie de la Détection - Equipe Leptosphaeria - Route de Saint-Cyr - 78026 Versailles	Tél. 01 30 83 32 21 - Fax 01 30 83 31 95 fudal@versailles.inra.fr
GAGEY	Marie-Josèphe.	CNRS - Bayer Cropscience - UMR 2847 - Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 02	Tél. 04 72 85 25 82 marie-joseph.gagey@bayercropscience.com
GAULIN	Elodie	UMR CNRS-UPS 5546 - Pôle de Biotechnologie Végétale - 24, chemin de Borde-Rouge - BP42617 Auzeville - 31326 Castanet Tolosan	Tél. 05 62 19 35 03 - Fax 05 62 19 35 02 gaulin@scsv.ups-tlse.fr
GÉLISSE	Sandrine	UMR Epidémiologie Végétale et Ecologie des Populations - INRA / INA-PG BP 01 - 78850 Thiverval-Grignon	Tél. 01 30 81 52 35 - Fax 01 30 81 53 06 gelisse@grignon.inra.fr
GIRAUD-DELVILLE	Corinne	INRA - PMDV - Equipe "Biotrytis" - Route de Saint-Cyr - 78026 Versailles Cedex	Tél. 01 30 83 32 17 - Fax 01 30 83 31 95 giraudde@versailles.inra.fr

GLADIEUX	Pierre	INRA Centre d'Angers - UMR PaVé 42, rue Georges Morel - BP 60057 - 49071 Beaucauzé	Tél. 02 41 22 57 46 gladieux@angers.inra.fr
GOSME	Marie	INRA Centre de Rennes - UMR Bio3P - Domaine de la Motte - BP 29 - 35653 Le Rheu Cedex	Tél. 02 23 48 58 19 marie.gosme@rennes.inra.fr
GOUDET	Jérôme	Department Ecology & Evolution - Biophore - UNIL-Sorge - UNIL - CH-1015 Lausanne - Suisse	Tél. 41 21 692 42 42 - Fax 41 21 692 42 65 jerome.goudet@unil.ch
GOUT	Lilian	INRA - Unité de Phytopathologie et Méthodologie de la Détection - Route de Saint-Cyr - 78026 Versailles Cedex	Tél. 01 30 83 32 29 - Fax 01 30 83 31 95 gout@versailles.inra.fr
GOYEAU	Henriette	INRA - Centre de Grignon - UMR Epidémiologie végétale - 78850 Thiverval-Grignon	Tél. 01 30 81 54 36 - Fax 01 30 81 53 06 goyeau@grignon.inra.fr
GRANDMOUGIN	Anne	Laboratoire de Mycologie/Phytopathologie./Environnement - Université du Littoral Côte d'Opale - 17, avenue Blériot - BP 699 - 62228 Calais	Tél. 03 21 96 48 07 grand@univ-littoral.fr
HALKETT	Fabien	CIRAD - UMR BGPI - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 99 62 48 10 - Fax 04 99 62 48 48 fabien.halkett@cirad.fr
HALLIER	Sonia	Cargill Specialty Canola Oil - 2540 East Drake road - Ford-Collins - CO 80525 - USA	Tél. 1 970 482 8818 - Fax 1 970 482 3870 Sonia_Hallier@cargill.com
HUSSON	Claude	INRA - UMR Interactions Arbres/Micro-organismes - Equipe Pathologie Forestière - 54280 Champenoux	Tél. 03 83 39 41 34 - Fax 03 83 39 40 69 claud.husson@nancy.inra.fr
IOOS	Renaud	INRA - UMR Interactions Arbres/Micro-organismes - Equipe Pathologie Forestière - 54280 Champenoux	Tél. 03 83 39 40 57 - Fax 03 83 39 40 69 ioos@nancy.inra.fr
JORGE	Véronique	INRA - Unité Amélioration Génétique et Physiologie Forestières - 2163, avenue de la Pomme de Pin - BP20619 - Ardon 45166 Olivet Cedex	Tél. 02 38 41 78 28 - Fax 02 38 41 48 09 jorge@orleans.inra.fr
KALTZ	Olivier	Laboratoire de Parasitologie Evolutive - CNRS - UMR 7103 - CC 237 - Université Pierre et Marie Curie - 7, quai Saint Bernard - 75252 Paris Cedex	Tél. 01 44 27 38 23 - Fax 01 44 27 35 16 okaltz@snv.jussieu.fr
KARKACHI	Noureddine	Université d'Oran Es-sénia - Faculté des Sciences - Département de Biologie - Laboratoire de phytopathologie - Oran - Algérie	Tél. 213 72 87 90 62 - Fax 213 41 41 40 23 noureddinekarkachi@hotmail.com
KOGEL	Karl-Heinz	Institut Für Phytopathologie und Angewandte Zoologie - Heinrich-Buff-Ring 26-32 - D-35392 Giessen - Allemagne	Tél. 49 641 99 37490 - Fax 49 641 99 37499 Karl-Heinz.Kogel@agrار.uni-giessen.de
KUHN	Marie-Line	INRA - Unité de Phytopathologie et Méthodologie de la Détection - Route de Saint-Cyr - 78026 Versailles Cedex	Tél. 01 30 83 31 96 - Fax 01 30 83 31 95 olivier@versailles.inra.fr

LAMBOU	Karine	CNRS - Bayer Crops Science - UMR 2847 - Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 02	Tél. 06 62 35 70 44 - Fax 04 72 85 22 97 karine.lambou@bayercrops-science.com
LANDRAUD	Patricia	CNRS - Bayer Crops Science - UMR 2847 - Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 02	Tél 04 72 85 26 78 - Fax 04 72 85 22 97 patricia.landraud@free.fr
LANGIN	Thierry	Institut de Biotechnologie des Plantes - CNRS - Université Paris Sud - 91405 Orsay	Tél. 01 69 15 33 64 - Fax 01 69 15 34 24 langin@ibp.u-psud.fr
LANNOU	Christian	INRA Centre de Grignon - UMR Epidémiologie végétale - 78850 Thiverval-Grignon	Tél. 01 30 81 54 26 - Fax 01 30 81 53 06 lannou@grignon.inra.fr
LATXAGUE	Emilie	INRA Centre de Rennes - UMR Bio3P - Domaine de la Motte - BP 29 - 35653 Le Rheu Cedex	Tél. 02 23 48 58 07 Emilie.Latxague@rennes.inra.fr
LEBRETON	Lionel	INRA Centre de Rennes - UMR Bio3P - Domaine de la Motte - BP 29 - 35653 Le Rheu Cedex	Tél. 02 23 48 58 18 - Fax 02 23 48 51 80 lionel.lebreton@rennes.inra.fr
LEBRUN	Marc-Henri	CNRS - Bayer Crops Science - UMR 2847 - Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 09	Tél. 04 72 85 24 81 - Fax 04 72 85 22 97 marc-henri.lebrun@bayercrops-science.com
LE CAM	Bruno	INRA Centre d'Angers - UMR PaVé 42, rue Georges Morel - BP 60057 - 49071 Beaucaouzé	Tél. 02 41 22 57 35 - Fax 04 41 22 57 05 lecam@angers.inra.fr
LECOULS	Anne-Claire	IRD - UMR 1097 Diversité et Génome des Plantes Cultivées - 911, avenue Agropolis - BP 64501 - 34394 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 67 41 62 96 - Fax 04 67 41 62 83 lecouls@mpl.ird.fr
LEYRONAS	Christel	INRA Pathologie Végétale - Domaine Saint Maurice - BP 94 - 84143 Montfavet Cedex	Tél. 04 32 72 28 67 - Fax 04 32 72 28 42 leyronas@grignon.inra.fr
L'HARIDON	Floriane	UMR Microbiologie et Géochimie des Sols - INRA - Université de Bourgogne - CMSE - 17, rue Sully - BP86510 - 21065 Dijon Cedex	Tél. 03 80 69 30 51 - Fax 03 80 69 32 24 lharidon@dijon.inra.fr
LIU	Weiwei	INRA Centre de Versailles-Grignon - Phytopathologie et Méthodologie de la Détection - 78000 Versailles	Tél. 01 30 83 31 27 - Fax 01 30 83 31 19 weiwei.liu@versailles.inra.fr
LOUVET	Gwénaëlle	INRA Centre de Bordeaux - UR 1264 MycSA - BP 81 - 71, rue Edouard Bourleaux - 33883 Villenave d'Ornon Cedex	Tél. 05 57 12 27 04 glouvet@bordeaux.inra.fr
LUCAS	Philippe	INRA Centre de Rennes - UMR Bio3P - Domaine de la Motte - BP 29 - 35653 Le Rheu Cedex	Tél. 02 23 48 51 92 - Fax 02 23 48 51 80 philippe.lucas@rennes.inra.fr
LUCIC	Eva	INRA / UHP - UMR 1136 Interactions Arbres/Microorganismes - Université H. Poincaré Nancy I - 54506 Vandoeuvre-les-Nancy	Tél. 03 83 68 42 38 - Fax 03 8368 42 92 eva.lucic@scbiol.uhp-nancy.fr
MAISONNEUVE	Brigitte	INRA Centre d'Avignon - Unité de Pathologie Végétale - Domaine Saint Maurice - BP 94 - 84143 Montfavet Cedex	Tél. 04 32 72 27 43 - Fax 04 32 72 27 02 maisonne@avignon.inra.fr

LAMBOU	Karine	CNRS - Bayer Cropsience - UMR 2847 - Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 02	Tél. 06 62 35 70 44 - Fax 04 72 85 22 97 karine.lambou@bayercropsience.com
LANDRAUD	Patricia	CNRS - Bayer Cropsience - UMR 2847 - Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 02	Tél 04 72 85 26 78 - Fax 04 72 85 22 97 patricia.landraud@free.fr
LANGIN	Thierry	Institut de Biotechnologie des Plantes - CNRS - Université Paris Sud - 91405 Orsay	Tél. 01 69 15 33 64 - Fax 01 69 15 34 24 langin@ibp.u-psud.fr
LANNOU	Christian	INRA Centre de Grignon - UMR Epidémiologie végétale - 78850 Thiverval-Grignon	Tél. 01 30 81 54 26 - Fax 01 30 81 53 06 lannou@grignon.inra.fr
LATXAGUE	Emilie	INRA Centre de Rennes - UMR Bio3P - Domaine de la Motte - BP 29 - 35653 Le Rheu Cedex	Tél. 02 23 48 58 07 Emilie.Latxague@rennes.inra.fr
LEBRETON	Lionel	INRA Centre de Rennes - UMR Bio3P - Domaine de la Motte - BP 29 - 35653 Le Rheu Cedex	Tél. 02 23 48 58 18 - Fax 02 23 48 51 80 lionel.lebreton@rennes.inra.fr
LEBRUN	Marc-Henri	CNRS - Bayer Cropsience - UMR 2847 - Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 09	Tél. 04 72 85 24 81 - Fax 04 72 85 22 97 marc-henri.lebrun@bayercropsience.com
LE CAM	Bruno	INRA Centre d'Angers - UMR PaVé 42, rue Georges Morel - BP 60057 - 49071 Beaucozéz	Tél. 02 41 22 57 35 - Fax 04 41 22 57 05 lecam@angers.inra.fr
LECOULS	Anne-Claire	IRD - UMR 1097 Diversité et Génome des Plantes Cultivées - 911, avenue Agropolis - BP 64501 - 34394 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 67 41 62 96 - Fax 04 67 41 62 83 lecouls@mpl.ird.fr
LEYRONAS	Christel	INRA Pathologie Végétale - Domaine Saint Maurice - BP 94 - 84143 Montfavet Cedex	Tél. 04 32 72 28 67 - Fax 04 32 72 28 42 leyronas@grignon.inra.fr
L'HARIDON	Floriane	UMR Microbiologie et Géochimie des Sols - INRA - Université de Bourgogne - CMSE - 17, rue Sully - BP86510 - 21065 Dijon Cedex	Tél. 03 80 69 30 51 - Fax 03 80 69 32 24 lharidon@dijon.inra.fr
LIU	Weiwei	INRA Centre de Versailles-Grignon - Phytopathologie et Méthodologie de la Détection - 78000 Versailles	Tél. 01 30 83 31 27 - Fax 01 30 83 31 19 weiwei.liu@versailles.inra.fr
LOUVET	Gwénaëlle	INRA Centre de Bordeaux - UR 1264 MycSA - BP 81 - 71, rue Edouard Bourleaux - 33883 Villenane d'Ornon Cedex	Tél. 05 57 12 27 04 glouvet@bordeaux.inra.fr
LUCAS	Philippe	INRA Centre de Rennes - UMR Bio3P - Domaine de la Motte - BP 29 - 35653 Le Rheu Cedex	Tél. 02 23 48 51 92 - Fax 02 23 48 51 80 philippe.lucas@rennes.inra.fr
LUCIC	Eva	INRA / UHP - UMR 1136 Interactions Arbres/Microorganismes - Université H. Poincaré Nancy I - 54506 Vandoeuvre-les-Nancy	Tél. 03 83 68 42 38 - Fax 03 8368 42 92 eva.lucic@scbiol.uhp-nancy.fr
MAISONNEUVE	Brigitte	INRA Centre d'Avignon - Unité de Pathologie Végétale - Domaine Saint Maurice - BP 94 - 84143 Montfavet Cedex	Tél. 04 32 72 27 43 - Fax 04 32 72 27 02 maisonne@avignon.inra.fr

NEEMA	Claire	UMR de Pathologie Végétale - INRA/INA-PG - Université Paris VI - 16 rue Claude Bernard - 75231 Paris Cedex 05	Tél. 01 44 08 17 05 neema@inapg.fr
NEUVÉGLISE	Cécile	INRA - UMR1238 - CNRS 2585 - Laboratoire de Microbiologie et Génétique Moléculaire - BP 01 - 78850 Thiverval-Grignon	Tél 01.30.81.54.78 - Fax 01.30.81.54.57 ncecile@grignon.inra.fr
NGARI	Chrisse	UMR - CNRS 5557 - Equipe Symbiose Mycorhizienne - Université Claude Bernard Lyon I - 43, boulevard du 11 novembre 1918 - 69622 Villeurbanne cedex	Tél. 04 72 44 83 02 - Fax 04 72 43 16 43 ngaric@yahoo.fr
NICOT	Philippe	INRA Centre d'Avignon - Unité de Pathologie Végétale - Domaine Saint Maurice - BP 94 - 84143 Montfavet Cedex	Tél. 04 32 72 28 41 - Fax 04 32 72 28 42 nicot@avignon.inra.fr
NOTTÉGHEM	X Jean-Loup	AgroM - UMR BGPI - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 99 62 48 20 - Fax 04 99 62 48 22 notteghe@ensam.inra.fr
PAQUIS	Sandra	Université de Reims - Laboratoire de Stress - Défenses et Reproduction des Plantes - URVVC EA 2069 - BP 1039 - 51687 Reims Cedex 2	Tél. 03 26 91 85 87 - Fax 03 26 91 87 10 sandra.paquis@etudiant.univ-reims.fr
PARIAUD	Bénédicte	INRA - Centre de Grignon - UMR Epidémiologie végétale - 78850 Thiverval-Grignon	Tél. 06 21 70 50 01 benedicte.pariaud@grignon.inra.fr
PARISI	Luciana	INRA Centre d'Angers - UMR Pavé 42, rue Georges Morel - BP 60057 - 49071 Beaucozéz	Tél. 04 41 22 57 25 - Fax 02 41 22 57 05 parisi@angers.inra.fr
PARLANGE	Francis	Unité PMDV - Equipe Leptosphaeria maculans - INRA Versailles - Route de Saint-Cyr - 78026 Versailles Cedex	Tél. 01 30 83 32 26 - Fax 01 30 83 31 95 parlange@versailles.inra.fr
PELZER	Elise	UMR D'Agronomie - INRA - INA-PG - BP 01 - 78850 Thiverval-Grignon	Tél. 01 30 81 59 55 epelzer@grignon.inra.fr
PETIT	Anne-Noëlle	Université de Reims - UR VVC - UPRES EA 2069 - UFR Sciences - Moulin de la Housse - BP 1039 - 51687 Reims Cedex 2	Tél. 03 26 91 33 39 an.petit@univ-reims.fr
PETITOT	Anne-Sophie	IRD - UMR 1097 Diversité et Génome des Plantes Cultivées - 911, avenue Agropolis - BP 64501 - 34394 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 67 41 62 87 - Fax 04 67 41 62 83 petitot@mpl.ird.fr
PONTS	Nadia	INRA Centre de Bordeaux - UR 1264 MycSA - BP 81 - 71, rue Edouard Bourleaux - 33883 Villenane d'Ornon Cedex	Tél. 03 35 57 12 24 83 - Fax 03 35 57 12 25 00 - nponts@bordeaux.inra.fr
POPE	Claude	INRA Centre de Grignon - UMR Epidémiologie végétale - 78850 Thiverval-Grignon	Tél. 01 30 81 52 27 - Fax 01 30 81 53 06 pope@grignon.inra.fr
POUSSEREAU	Nathalie	UMR - CNRS 5557 - Equipe Symbiose Mycorhizienne - Université. Claude Bernard Lyon I - 43, bd du 11 novembre 1918 - 69622 Villeurbanne cedex	Tél. 04 72 44 85 42 poussere@biomserv.univ-Lyon1.fr

PROFOTOVA	Bronislava	INRA - Unité de Phytopathologie et Méthodologie de la Détection - Route de Saint-Cyr - 78026 Versailles Cedex	Tél. 01.30.83.31.96 - Fax 01.30.83.31.95 bprofotova@versailles.inra.fr
PUJADE-RENAUD ✕	Valérie	Cirad - UMR PIA, avenue Agropolis - TA 80/03 - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 67 61 71 27 - Fax 04 67 61 56 05 valerie.pujade-renaud@cirad.fr
QUEVILLON	Emmanuel	INRA Versailles - CNRS - UMR 847 - Unité de Recherche Génomique-Info - 91000 Evry	Tél. 01 60 87 37 22 - Fax 01 60 87 37 99 equevill@infobiogen.fr
RANDOUX	Béatrice	LMPE - Université du Littoral Côte d'Opale - ISAB Beauvais - 62228 Calais Cedex	Tél. 03 21 96 48 07 - Fax 03 21 34 71 13 randoux@univ.-littoral.fr
RÉMY	Estelle	INRA Unité de Phytopathologie et Méthodologie de la Détection - - Route de Saint-Cyr - 78026 Versailles Cedex	Tél. 01 30 83 32 21 eremy@versailles.inra.fr
RENARD	Delphine	Laboratoire "Mycologie-Phyto-Environ." - Université du Littoral Côte d'Opale - BP 699 - 62228 Calais Cedex	Tél. 03 21 96 48 07 - Fax 03 21 34 71 13 delphine.renard@univ-littoral.fr
RICCI	Pierre	INRA Sophia Antipolis - Santé des Plantes et Environnement - 400, route des Chappes - BP 167 - 06903 Sophia Antipolis Cedex	Tél. 04 92 38 64 93 - Fax 04 92 38 64 01 ricci@antibes.inra.fr
RICKAUER	Martina	Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie Toulouse - 31326 Castanet-Tolosan	Tél. 05 62 19 35 87 - Fax 05 62 19 35 89 martina.rickauer@ensat.fr
RINALDI	Cécile	INRA Nancy - UMR INRA/UHP - 1136 - IFR 110 - 54280 Champenoux	Tél. 03 83 39 40 41 - Fax 03 83 39 40 69 rinaldi@nancy.inra.fr
RIVIÈRE	Marie-Pierre	INRA UMR Interactions Plantes-Microorganismes et Santé Végétale - 400, route des Chappes - BP 167 - 06903 Sophia Antipolis Cedex	Tél. 04 93 38 65 91 - Fax 04 93 38 65 87 riviere@antibes.inra.fr
ROUSSEL ✕	Véronique	CIRAD - UMR BGPI - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 99 62 48 23 - Fax 04 99 62 48 48 veronique.rousseau@cirad.fr
ROY	Mélanie	CNRS CEFÉ UMR 5175 - 1919, route de Mende - 34293 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 67 61 32 31 - Fax 04 67 41 21 38 mroy@cefe.cnrs.fr
SACHE	Ivan	INRA - Centre de Grignon - UMR Epidémiologie Végétale - 78850 Thiverval-Grignon	Tél. 01 30 81 54 35 - Fax 01 30 81 53 06 sache@grignon.inra.fr
SAINDRENAN	Patrick	Institut de Biotechnologie des Plantes - CNRS-Université Paris-Sud - Bât. 630 - 91405 Orsay Cedex	Tél. 01 69 15 33 64 - Fax 01 69 15 33 24 saindrenan@ibp-psud.fr
SAINT-MACARY	Marie-Emmanuelle	CNRS - Bayer Cropscience - UMR 2847 - Physiologie des plantes - 14-20, rue Pierre Baizet - 69263 Lyon Cedex 02	Tél. 04 72 85 25 82 - Fax 04 72 85 22 97 marie-emmanuelle.saint-macary@bayercropscience.com

SAPOUKHINA	Natalia	INRA Centre d' Angers - UMR PaVé 42, rue Georges Morel - BP 60057 - 49071 Beaucouzé	Tél. 02 41 22 57 00 - Fax 02 41 22 57 05 Natalia.Sapoukhina@angers.inra.fr
SAUVAGE	Hélène	ESITPA - Laboratoire BioSol - 13, rue du Nord - Université de Rouen - 76000 Rouen	Tél. 02 35 07 48 80 - Fax 02 35 07 48 97 hsauvage@esitpa.org
SERANDAT	Isabelle	INRA Centre d' Angers - UMR Pavé 42, rue Georges Morel - BP 60057 - 49071 Beaucouzé Cedex	Tél. 02 41 22 58 59 ou 58 03 - Fax 02 41 22 58 01 - isabelle.serandat@geves.fr
SCHMIT	Jacques	INRA - Unité de Phytopathologie et Méthodologie de la Détection - Route de Saint-Cyr - 78026 Versailles Cedex	Tél. 01 30 83 32 03 - Fax 01 30 83 31 95 jschmit@versailles.inra.fr
SELOSSE	Marc-André	CNRS CEFE UMR 5175 - 1919, route de Mende - 34293 - Montpellier Cedex 5	Tél. 04 67 67 61 32 31 - Fax 04 67 41 21 38 ma.selosse@wanadoo.fr
SHAW	Mike	School of Biological Sciences - Plant Science Laboratory - L4 TOB2 - Earley Gate - Whiteknights - Readings - Berks RG6 6AS - Angleterre	Tél. 44 118 378 8093 m.w.shaw@reading.ac.uk
SIDDI	Christelle	UMR IR2B - Université de Montpellier II - 34095 Montpellier	Tél. 06 64 65 99 26 csiddi@univ-montp2.fr
SPANU	Pietro	Imperial College Road - Room 610 SAFB - London - SW7 2AZ London - Angleterre	Tél. 44 207 5945 384 p.spanu@imperial.ac.uk
SPLIVALLO	Richard	University of Torino - Department of Plant Biology - 25 Viale Mattioli - Torino 10125 - Italie	Tél. 39 320 1 579 681 - Fax 39 011 670 59 62 richard.splivallo@unito.it
STEINBERG	Christian	INRA - PMDV - Equipe Leptosphaeria - Route de Saint-Cyr - 78026 Versailles Cedex	Tél. 03 80 69 30 50 - Fax 03 80 69 32 24 steinberg@dijon.inra.fr
TELLIER	Aurélien	Disease and Stress Biology - John Innes Centre - Norwich Research Park - Colney Lane - NR4 7UH - Angleterre	Tél. 44 1603 452194 aurelien.tellier@bbsrc.ac.uk
THARREAU	Didier	CIRAD - UMR BGPI - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 99 62 48 39 - Fax 04 99 62 48 48 didier.tharreau@cirad.fr
THOIRAIN	Bénédicte	INRA Nancy - UMR Interactions Arbres/Micro-organismes - Equipe Pathologie Forestière - 54280 Champenoux	Tél. (standard) 03.83.39.40.41 - Fax 40.69 thoirain@nancy.inra.fr
TRAVADON	Renaud	INRA Centre de Rennes - UMR Bio3P - Domaine de la Motte - BP 29 - 35653 Le Rheu Cedex	Tél. 02 2348 57 11 - Fax 02 23 48 51 80 travadon@rennes.inra.fr
TROULET	Claire	INRA Centre d' Avignon - Unité de Pathologie Végétale - Domaine Saint Maurice - BP 94 - 84143 Montfavet Cedex	Tél. 04 32 72 28 58 - Fax 04 32 72 28 42 troulet@avignon.inra.fr

VARNIER	Anne-Lise	Université de Reims - Laboratoire de Stress - Défenses et Reproduction des Plantes - URVVC EA 2069 - BP 1039 - 51687 Reims Cedex 2	Tél. 03 26 91 85 87 - Fax 03 26 91 87 10 al.varnier@univ-reims.fr
VERNEAULT-FOURREY	Claire	School of Biosciences - University of Exeter - Washington Singer Laboratories - Perry Road - Exeter - EX4 4QG - Angleterre	Tél. 44 1392 264689 C.Veneault-Fourrey@exeter.ac.uk
VERGNE	Emilie	INRA - UMR BGPI - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 67 61 58 00 (poste 4184) - Fax 04 99 62 48 22 vergne@ensam.inra.fr
ZAPATER	<i>X</i> Marie-Françoise	CIRAD - UMR BGPI - Campus International de Baillarguet - TA 41/K - 34398 Montpellier Cedex 5	Tél. 04 99 62 48 27 - Fax 04 99 62 48 48 marie-francoise.zapater@cirad.fr

