

SÉLECTION ASSISTÉE PAR LES **E**FFECTEURS FONGIQUES DE RÉSISTANCES AUX CHAMPIGNONS PATHOGÈNES CHEZ LE **B**LÉ (**SEB**)

LEBRUN, Marc-Henri

- 1 - INRA AgroParis Tech BIOGER, Thiverval-Grignon, France
- 2 – INRA BGPI, Montpellier, France
- 3 – BIOGEMMA, Clermont-Ferrand, France
- 4 – INRA GDEC, Clermont-Ferrand, France
- 5 – RAGT UK, Ickleton, UK
- 6 – NIAB, Cambridge, UK
- 7 – Lemaire-Deffontaines, Auchy-les-Orchies, France
- 8 – RAGT, Louville la Chenard, France
- 9 – Caussade Semences, Caussade, France
- 10 – CETAC et KWS-Momont Recherche, Monts en Pelée, France
- 11 – SECOBRA, Maule, France
- 12 – Arvalis, Thiverval-Grignon, France
- 13- - WUR, Wageningen, The Netherlands
- 14 – Florimond Desprez, Cappelle en Pévèle, France
- 15 – CCDM, Curtin University, Perth, Australia
- 16 – RAGT Czech, Branišovice, Czech Republic
- 17 – ASUR Plant Breeding, Estrées-Saint-Denis, France

Projet focalisé sur la résistance du blé aux champignons pathogènes

Fusarium graminearum

Zymoseptoria tritici

Parastagonospora nodorum

Z. tritici



P. nodorum



F. graminearum

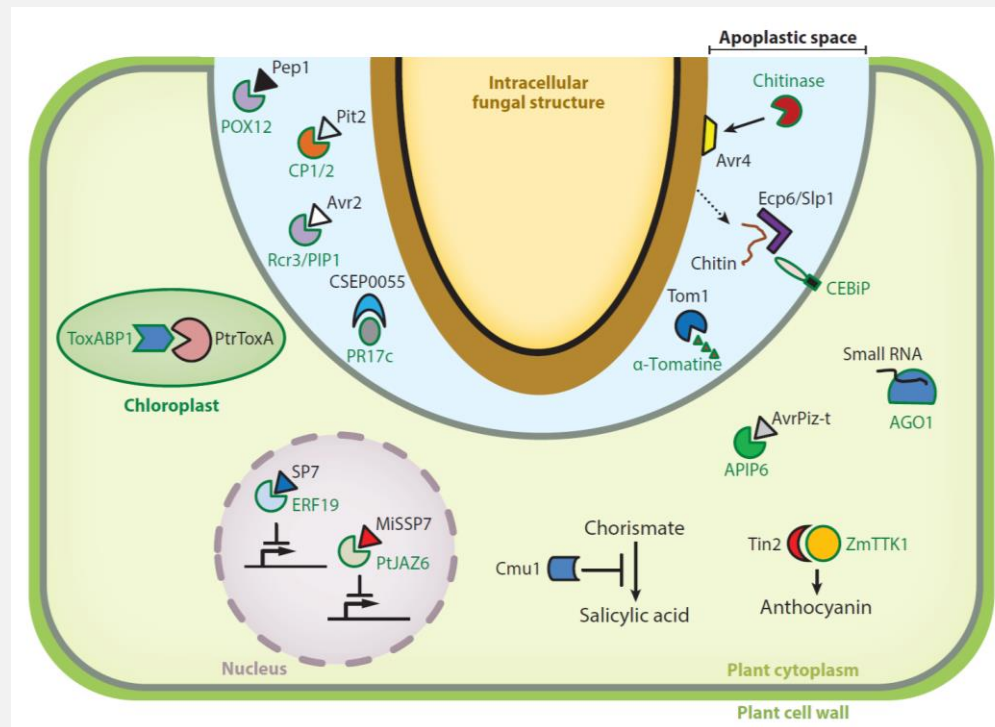


Sélection assistée par les Effecteurs fongiques de résistances aux champignons pathogènes chez le Blé

Qu'est ce qu'un effecteur fongique ?

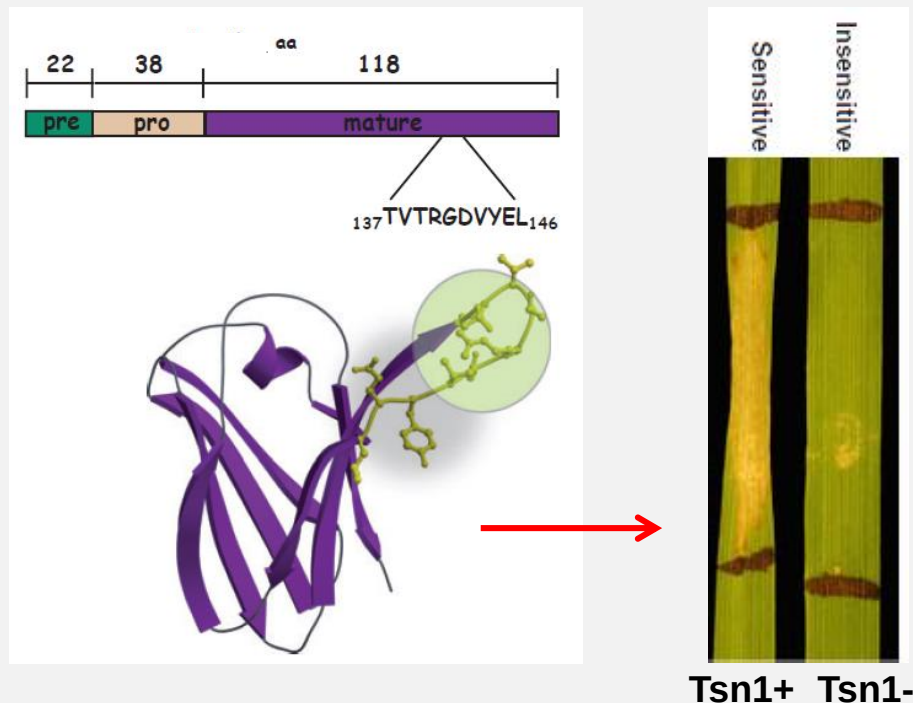
Sélection assistée par les Effecteurs fongiques de résistances aux champignons pathogènes chez le Blé

Effecteurs fongiques: protéines sécrétées par les champignons dans les tissus de la plante qui facilitent l'infection en modifiant le métabolisme ou en inhibant les défenses

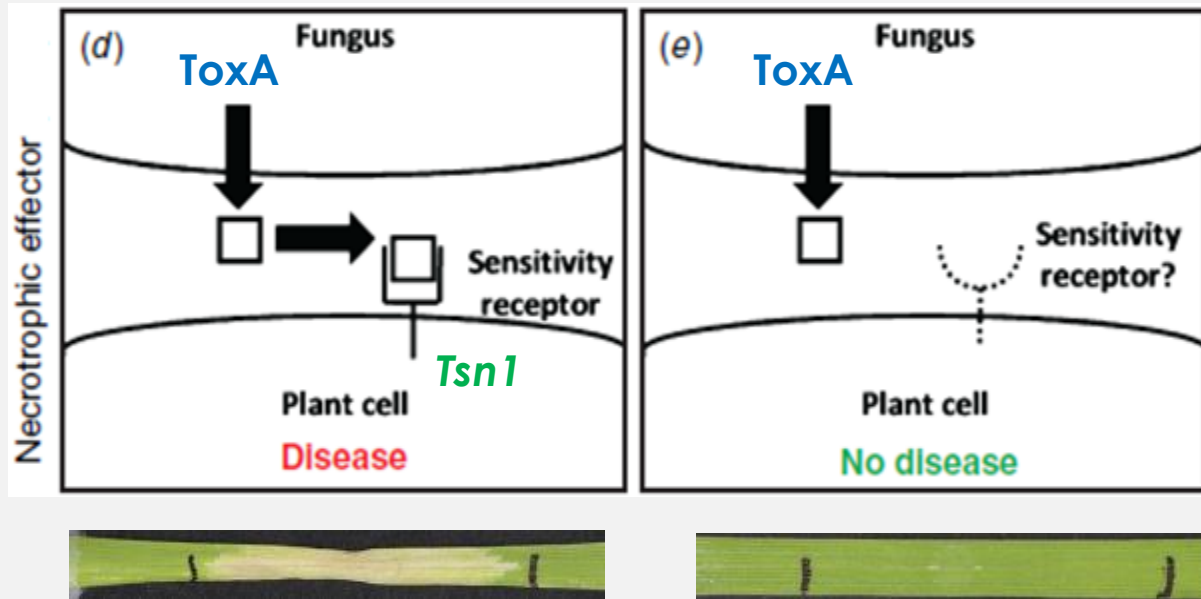


Exemple d'effecteur protéique fongique toxique

ToxA produit par *P. nodorum* :
protéine sécrétée dans les feuilles de blé infectées
toxique pour les cultivars de blé ayant le gène *Tsn1*



Exemple d'effecteur protéique fongique toxique

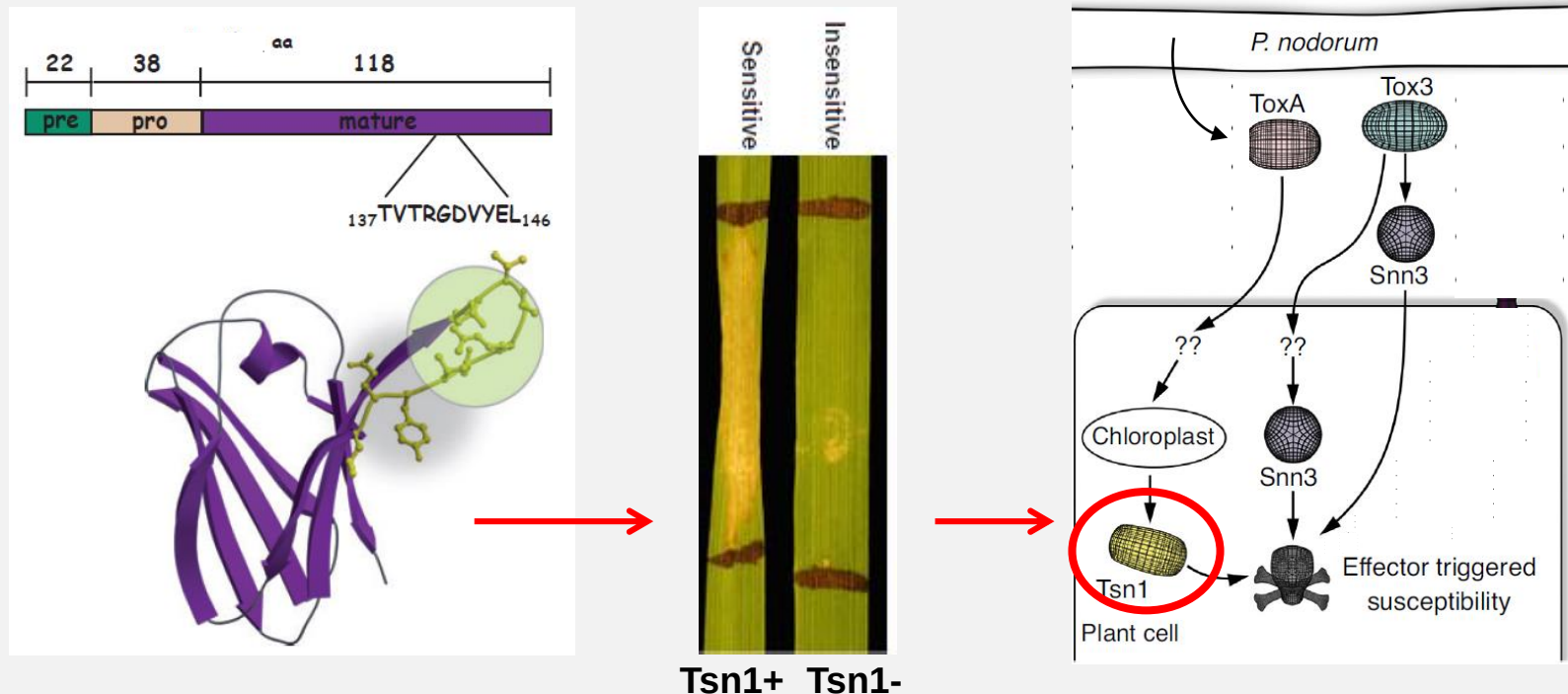


Sensibilité à ToxA
= attaque de *P. nodorum*

Insensibilité à ToxA
= pas d'attaque de *P. nodorum*

Exemple d'effecteur protéique fongique toxique

ToxA produit par *P. nodorum* :
protéine sécrétée dans les feuilles de blé infectées
toxique pour les blés ayant le gène *Tsn1*



Recherche d'effecteurs fongiques toxiques pour le blé

Production de protéines recombinées

Effecteurs candidats

Gène synthétisé et
exprimé chez *Pichia*

Production par
Pichia

Purification



BBF
Marseille



Curtin University

Recherche d'effecteurs fongiques toxiques pour le blé

Production de protéines recombinées

Effecteurs candidats

Gène synthétisé et exprimé chez *Pichia*

Production par *Pichia*

Purification



BBF
Marseille



Curtin University

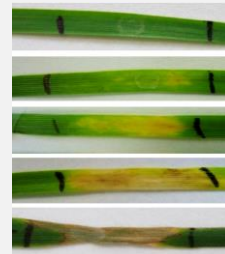


Mesure de leur toxicité pour le blé

Injection dans les feuilles de blé

Symptômes ?

Test sur différents cultivars de blé sensible ? résistant ?



PnToxA



Curtin University



Recherche d'effecteurs fongiques toxiques pour le blé

Production d'effecteurs de *Z. tritici*

8 effecteurs candidats

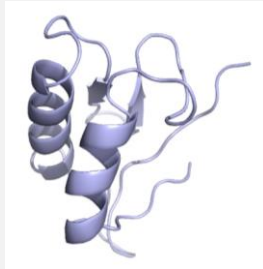
Zt-Nip1 et Zt-Nip2

Zt-Max1,

4 Cératoplatanines

1 Endoglucanase

Aucune toxicité pour le blé
(feuilles)



Zt-Max1
Structure
similaire
à celle
de la protéine
toxique
KP6

Recherche d'effecteurs fongiques toxiques pour le blé

Production d'effecteurs de *Z. tritici*

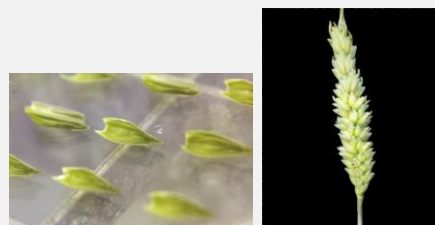
8 effecteurs candidats
Zt-Nip1 et Zt-Nip2
Zt-Max1,
4 Cératoplatanines
1 Endoglucanase
Aucune toxicité pour le blé (feuilles)



Zt-Max1
Structure
similaire
à celle
de la protéine
toxique
KP6

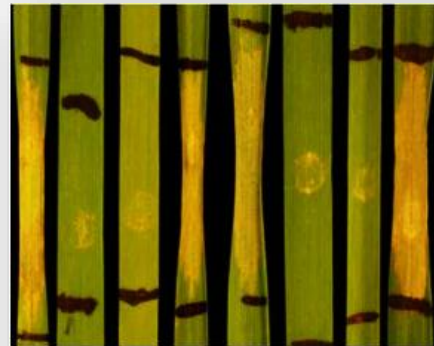
Production d'effecteurs de *F. graminearum*

6 effecteurs candidats
2 SSP inconnues,
1 HIP (HR inducing)
1 PHIA associée à la paroi
1 Cératoplatanine
1 Xylanase
Aucune toxicité pour le blé (feuilles, épis, fleurs)



Utilisation des effecteurs toxiques de *P. nodorum* pour identifier des cultivars de blé insensibles (résistants)

	cible cellulaire	cible proteique	gene de sensibilité
PnToxA	Chloroplastes	ToxABP1, PR1	Tsn1 (NBS-LRR)
PnTox1	Chloroplastes	Inconnue	Snn1 (WAK)
PnTox3	Inconnue	PR1	Snn3



Analyse de 220 cultivars élités français du panel de l'ANR Breedwheat

Pays	S ToxA	S Tox3	S Tox1	N	R 3 tox	S 3 tox
AUT	0,00	0,75	0,25	4	0,00	0,00
BEL	0,00	0,33	0,00	3	0,67	0,00
DEU	0,00	0,43	0,14	7	0,43	0,00
DNK	0,00	0,00	0,00	3	1,00	0,00
FRA	0,14	0,37	0,08	153	0,50	0,01
ITA	0,27	0,55	0,09	11	0,36	0,00
MOR	0,50	0,50	0,00	2	0,00	0,00
SPA	0,00	0,25	0,00	4	0,75	0,00
SYR	0,40	0,67	0,40	5	0,00	0,20
UK	0,04	0,48	0,22	23	0,30	0,04
Autre	0,00	0,25	0,25	4	0,50	0,00
Total	0,13	0,39	0,11	219	0,46	0,02

50% des cultivars français sont insensibles à ToxA, Tox1 et Tox3 (R 3 Tox)
0% des cultivars en Australie

Analyse de 220 cultivars élités français du panel de l'ANR Breedwheat

Pays	S ToxA	S Tox3	S Tox1	N	R 3 tox	S 3 tox
AUT	0,00	0,75	0,25	4	0,00	0,00
BEL	0,00	0,33	0,00	3	0,67	0,00
DEU	0,00	0,43	0,14	7	0,43	0,00
DNK	0,00	0,00	0,00	3	1,00	0,00
FRA	0,14	0,37	0,08	153	0,50	0,01
ITA	0,27	0,55	0,09	11	0,36	0,00
MOR	0,50	0,50	0,00	2	0,00	0,00
SPA	0,00	0,25	0,00	4	0,75	0,00
SYR	0,40	0,67	0,40	5	0,00	0,20
UK	0,04	0,48	0,22	23	0,30	0,04
Autre	0,00	0,25	0,25	4	0,50	0,00
Total	0,13	0,39	0,11	219	0,46	0,02

50% des cultivars français sont insensibles à ToxA, Tox1 et Tox3 (**R 3 Tox**)

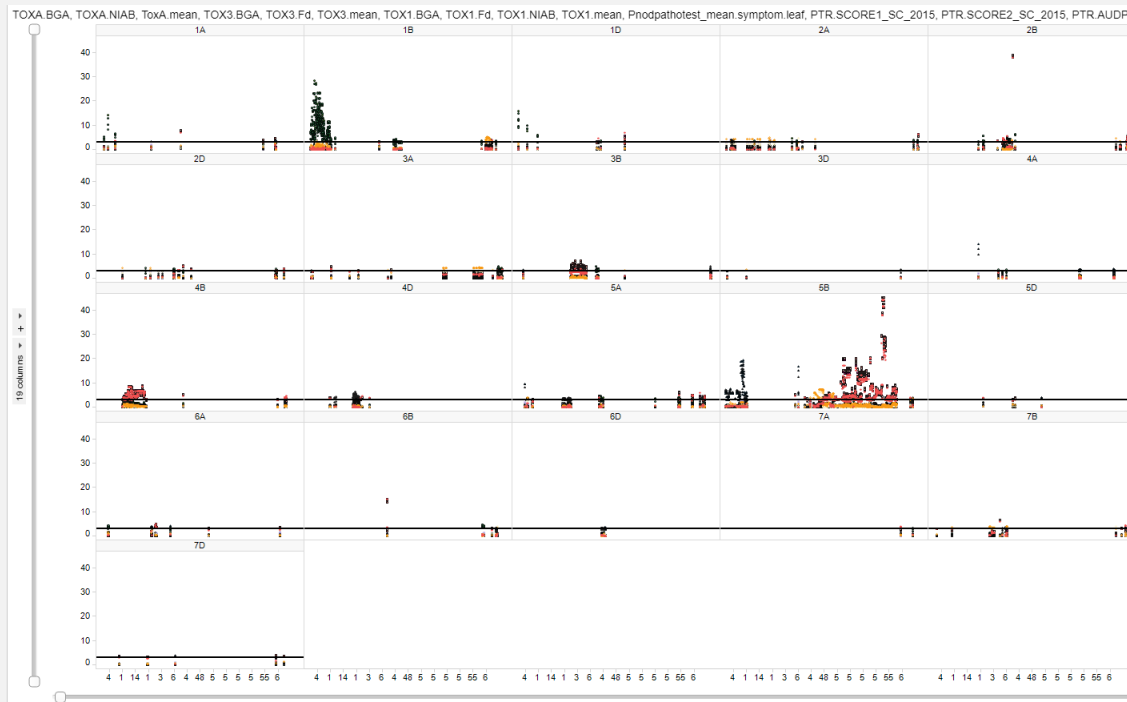
Sélection pour la résistance à *P. nodorum* dans les années 1970-80
(effet Rapilly) = élimination des gènes de sensibilité *Snn1*, *Snn3* et *Tsn1*?

Cartographie des insensibilités aux effecteurs toxiques de *P. nodorum*

Données phénotypiques

Tests multi-locaux avec les effecteurs purifiés ToxA, Tox1 et Tox3 de *P. nodorum*

Génétique d'association (génotypage Breedwheat, analyse BIOGEMMA)

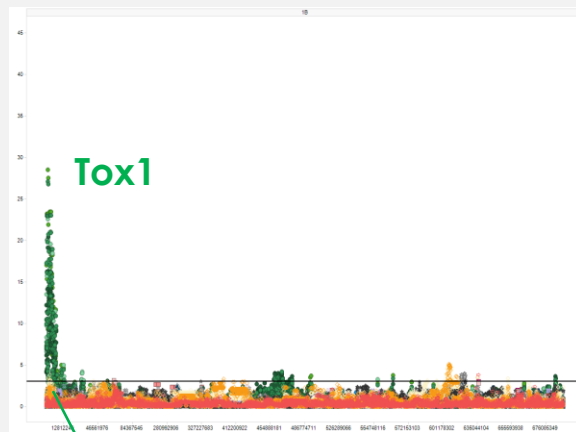


Cartographie des insensibilités aux effecteurs toxiques de *P. nodorum*

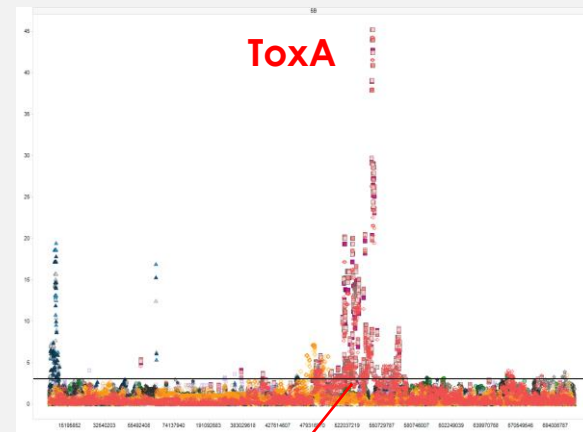
Données phénotypiques

Tests multi-locaux avec les effecteurs purifiés ToxA, Tox1 et Tox3 de *P. nodorum*

Génétique d'association (génotypage Breedwheat, analyse BIOGEMMA)



Snn1 locus
chr1B: 2354630..2357674



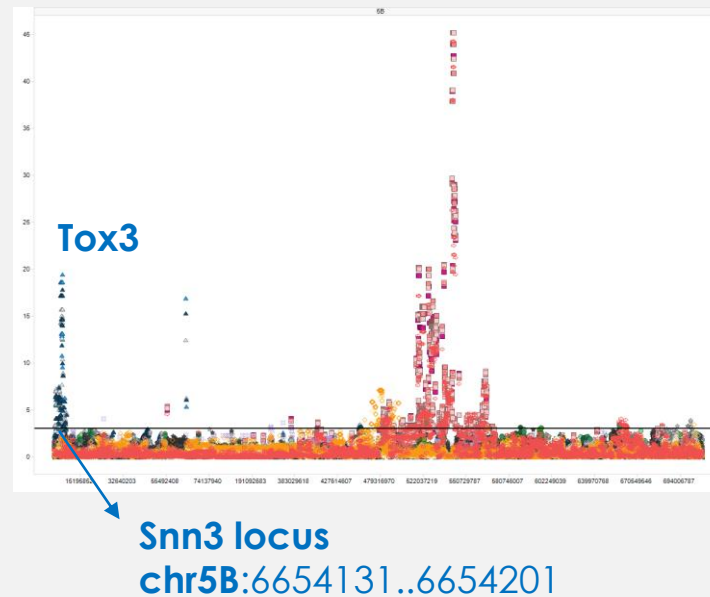
Tsn1 locus
chr5B:546825379..546833139

Cartographie des insensibilités aux effecteurs toxiques de *P. nodorum*

Données phénotypiques

Tests multi-locaux avec les effecteurs purifiés ToxA, Tox1 et Tox3 de *P. nodorum*

Génétique d'association (génotypage Breedwheat, analyse BIOGEMMA)

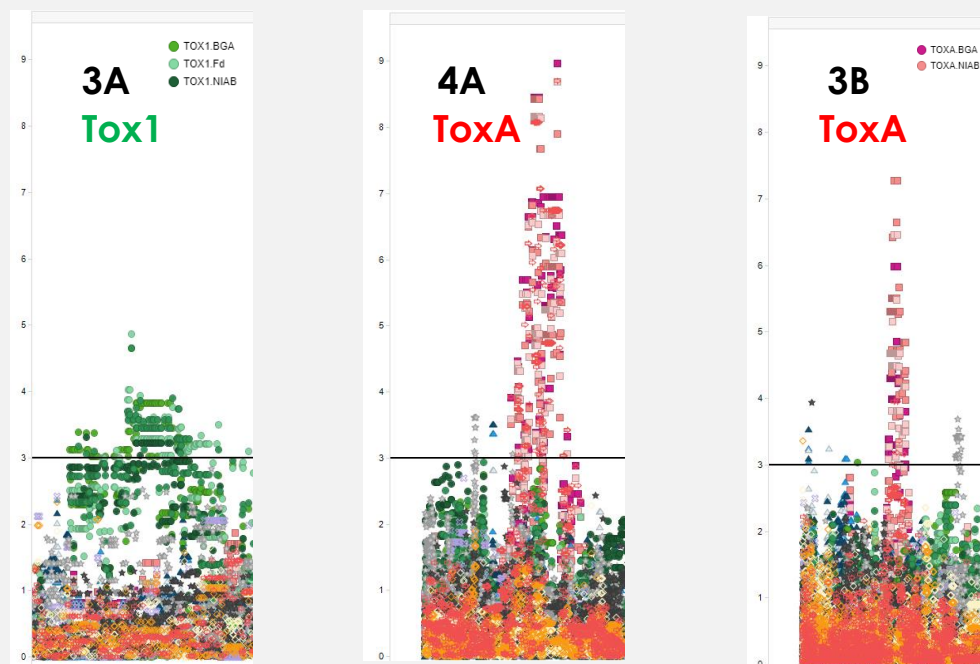


Cartographie des insensibilités aux effecteurs toxiques de *P. nodorum*

Données phénotypiques

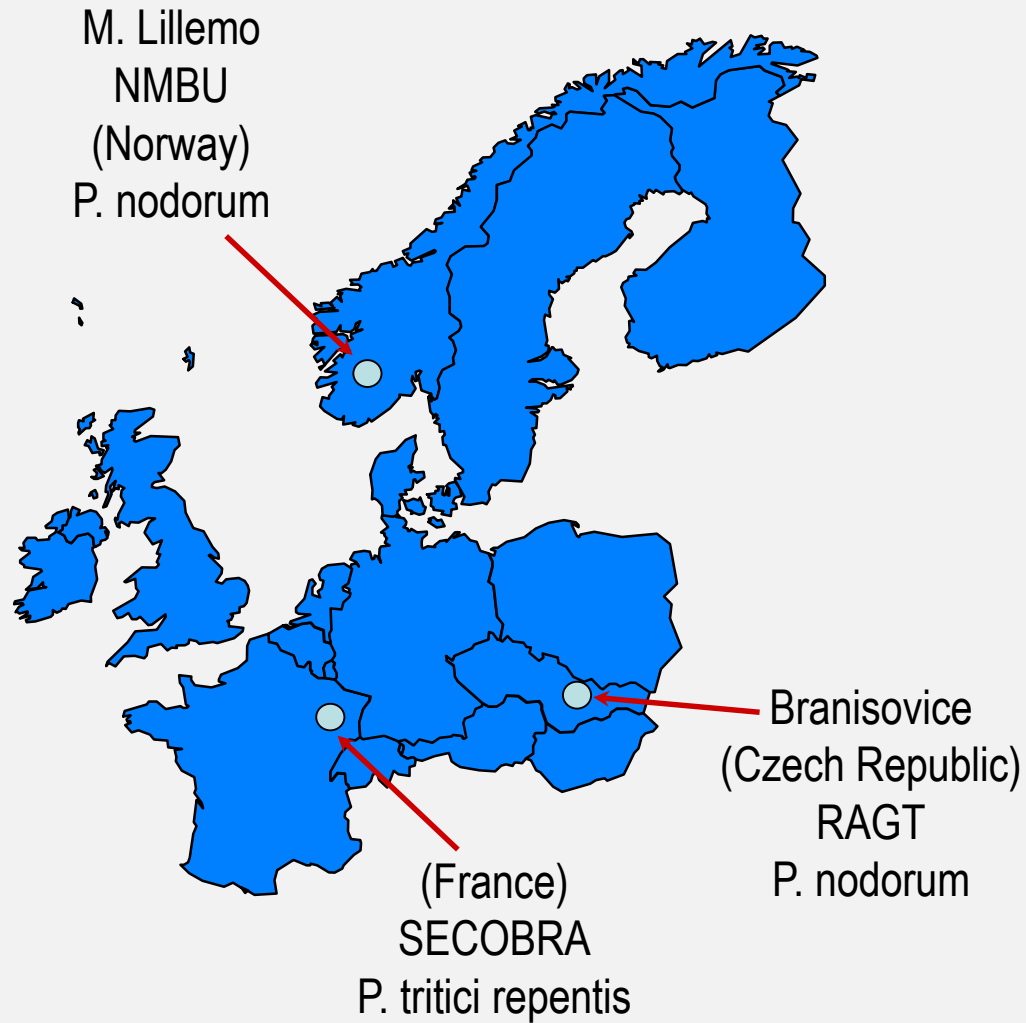
Tests multi-locaux avec les effecteurs purifiés ToxA, Tox1 et Tox3 de *P. nodorum*

Génétique d'association (génotypage Breedwheat, analyse BIOGEMMA)

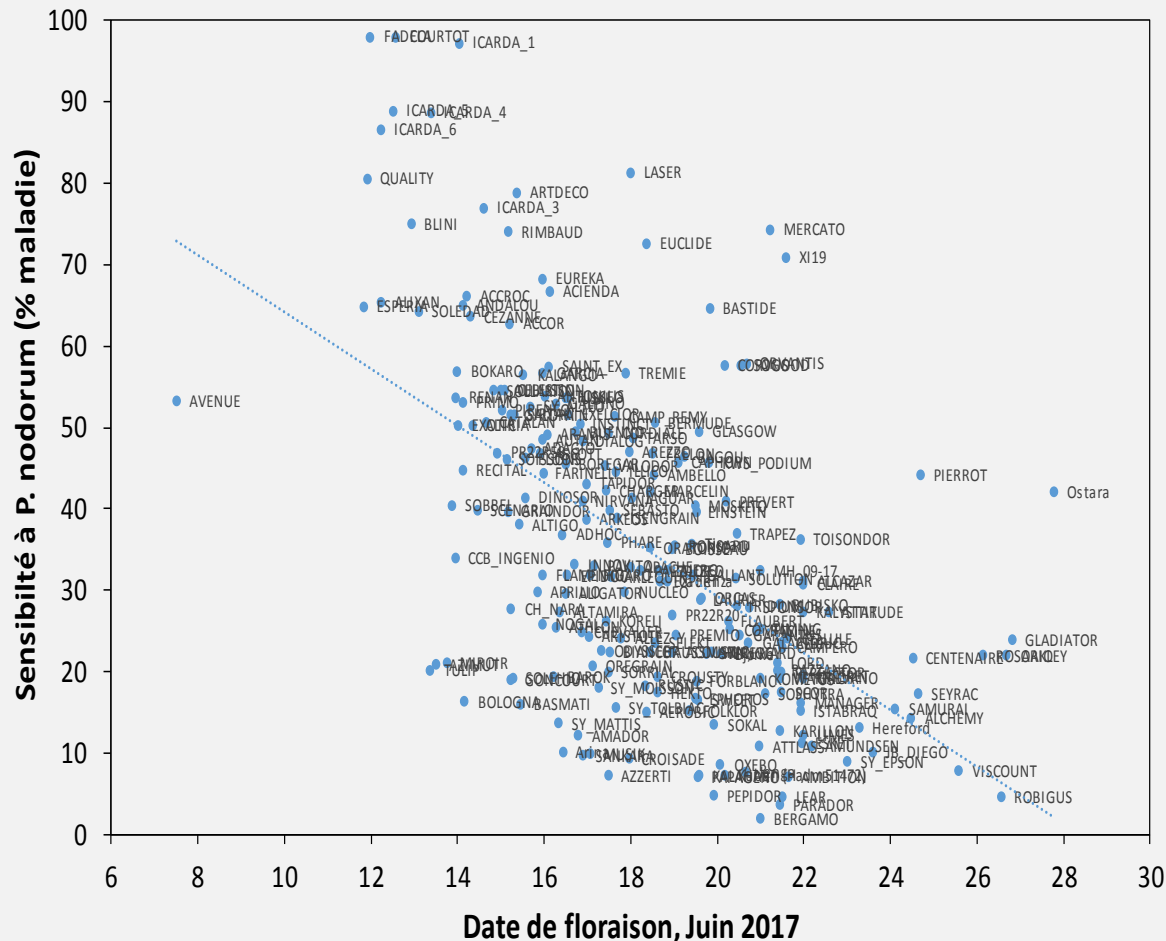


Nouveaux loci impliqués dans la sensibilité aux effecteurs toxiques

Cartographie des résistances du blé à *P. nodorum* (essais multi-locaux)



Cartographie des résistances du blé à *P. nodorum* (essais multi-locaux)



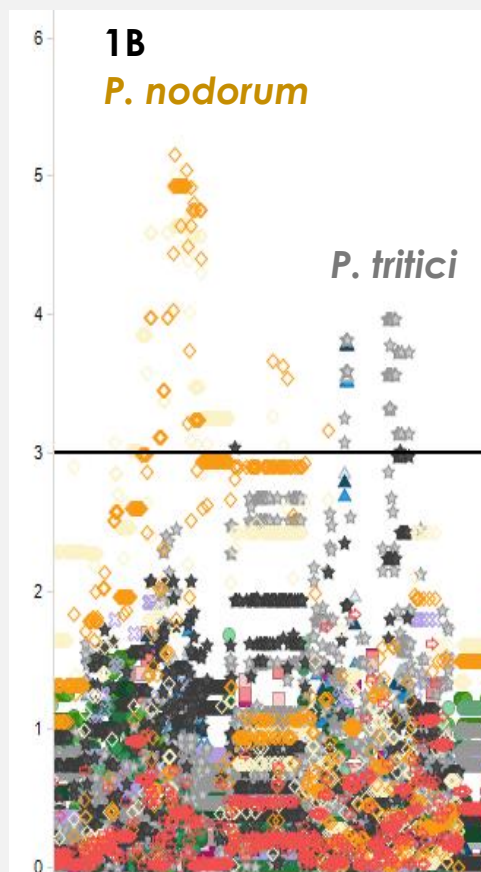
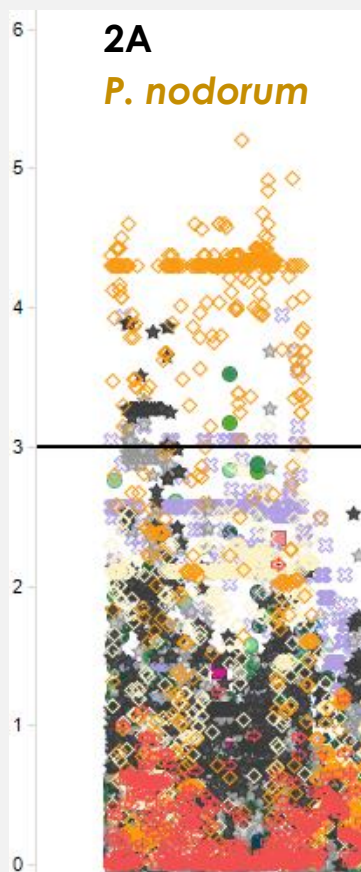
**Niveaux de sensibilité foliaire à *P. nodorum* des cultivars du panel Breedwheat
Essais au champ, inoculation *Pn*, NMBU, Norvège, 2017**

Cartographie des résistances du blé à *P. nodorum* (essais multi-locaux)

Données phénotypiques

POP	Cultivars	Pilot	Place	Date	type	disease	loci attendus	notation
BW WEAB	240	SECOBRA	Heutregiville (51), France	2015	Field test	<i>Pyrenophora tritici repentis</i>	<i>Tsn1</i>	1B PTR score, AUDPC
BW WEAB	252	SECOBRA	Heutregiville (51), France	2016	Field test	<i>Pyrenophora tritici repentis</i>	<i>Tsn1</i>	PTR score
BW WEAB	221	Lillemo-Mommont	Norway	2017	Field test	<i>Parastagonospora nodorum</i>	<i>Tsn1</i>	Leaf % nec

Génétique d'association (génotypage Breedwheat, analyse BIOGEMMA)



- PTR.SCORE1_SC_2015
- PTR.SCORE2_SC_2015
- PTR.AUDPC_SC_2015
- PTR.SCORE1_SC_2016
- PTR.SCORE2_SC_2016
- LB.Mean_Pnod_Norway_2017
- LBcorrigéHDPH_Pnod_Norway_2017

Conclusions 1

Identification d'effecteurs de *F. graminearum* et *Z. tritici* toxiques pour le blé: 0 / 14 testés,

(RRES, UK: 1 toxique / 63 Zt effecteurs testés; Total 1 / 72 testés)

Identification de cultivars de blé insensibles aux effecteurs toxiques de *P. nodorum* (ToxA, tox1, Tox3): 219 cultivars breedwheat

46 % des cultivars sont insensibles aux 3 effecteurs

Seuls 4 cultivars sont sensibles aux 3 effecteurs

Ancienne sélection par élimination des gènes de sensibilité ?

Conclusions 1

Identification d'effecteurs de *F. graminearum* et *Z. tritici* toxiques pour le blé: 0 / 14 testés,

(RRES, UK: 1 toxique / 63 Zt effecteurs testés; Total 1 / 72 testés)

Identification de cultivars de blé insensibles aux effecteurs toxiques de *P. nodorum* (ToxA, tox1, Tox3): 219 cultivars breedwheat

46 % des cultivars sont insensibles aux 3 effecteurs

Seuls 4 cultivars sont sensibles aux 3 effecteurs

Ancienne sélection par élimination des gènes de sensibilité ?

Cartographie des loci impliqués dans la sensibilité du blé aux effecteurs toxiques de *P. nodorum* (ToxA, Tox1, Tox3)

QTLs co-localisant avec Snn1, Snn3 et Tsn1

Autres QTLs mineurs

Cartographie des loci impliqués dans la sensibilité du blé à *P. nodorum*

QTLs majoritairement différents de Snn1, Snn3 et Tsn1

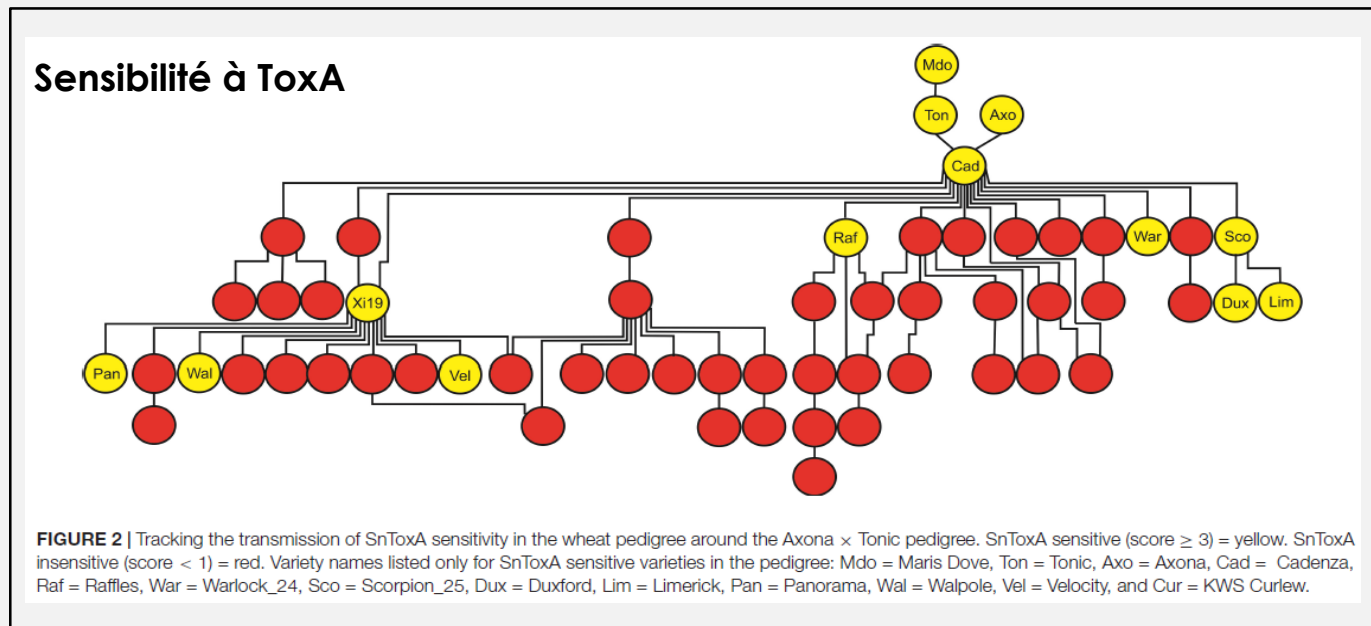
Autres effecteurs toxiques en jeu ?

(au moins 5 autres effecteurs toxiques connus)

Conclusions 2

**Les rares cultivars sensibles à ToxA, Tox1 et Tox3 tels que
Cadenza et ses descendants dont XI19
Soissons
sont les plus sensibles à *P. nodorum* dans nos essais multi-locaux**

**Sensibilités à ToxA, Tox1 et Tox3
= risque de forte sensibilité à *P. nodorum***



Downie et al. (2018) Front Plant Sci. 9:881.

REMERCIEMENTS

Marc-Henri LEBRUN^{*1}, Elsa BALLINI², Guylaine BESNIER-HEBERT³, Ludovic BONHOMME⁴, Ruth BRYANT⁵, Florence CAMBON⁴, James COCKRAM⁶, Jean-Michel DELHAYE⁷, Aurélie DUCASSE², Rowena DOWNIE⁶, Laure DUCHALAIS⁸, Sylvie DUTRIEZ⁹, Benoit FOUCAULT¹⁰, Pascal GIRAUDEAU¹¹, Lilian GOUT¹, Bruno GREZEZS-BESSE³, Delphine HOURCADE¹², Gert KEMA¹³, Thomas KROJ², Stéphane LAFARGE³, Thierry LANGIN⁴, Valérie LAURENT¹⁴, Jean-Benoit MOREL², Richard OLIVER¹⁵, Jan PANEK¹⁶, Cyrille SAINTENAC⁴, Charles SNIJDERS¹⁷, Kar-Chun TAN¹⁵, Romain VALADE¹².

et l'ANR Breedwheat

- 1 - INRA AgroParis Tech BIOGER, Thiverval-Grignon, France
- 2 – INRA BGPI, Montpellier, France
- 3 – BIOGEMMA, Clermont-Ferrand, France
- 4 – INRA GDEC, Clermont-Ferrand, France
- 5 – RAGT UK, Ickleton, UK
- 6 – NIAB, Cambridge, UK
- 7 – Lemaire-Deffontaines, Auchy-les-Orchies, France
- 8 – RAGT, Louville la Chenard, France
- 9 – Caussade Semences, Caussade, France
- 10 – CETAC et KWS-Momont Recherche, Monts en Pelée, France
- 11 – SECOBRA, Maule, France
- 12 – Arvalis, Thiverval-Grignon, France
- 13- - WUR, Wageningen, The Netherlands
- 14 – Florimond Desprez, Cappelle en Pévèle, France
- 15 – CCDM, Curtin University, Perth, Australia
- 16 – RAGT Czech, Branišovice, Czech Republic
- 17 – ASUR Plant Breeding, Estrées-Saint-Denis, France