DOCTORAT ECOLOGIE
BRETAGNE GEOSCIENCES
LOIRE AGRONOMIE ALIMENTATION

PROPOSITION D'UN PROJET DE THÈSE A L'ÉCOLE DOCTORALE « Écologie, Géosciences, Agronomie, ALimentation »

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Titre de la thèse : L'aldaulactone, une toxine au cœur de l'interaction carotte *A. dauci* : voie de biosynthèse, modes d'action et mécanismes de résistance.

Acronyme : RESALD

Champ disciplinaire 1 : Agronomie

Champ disciplinaire 2 : Ecologie

Trois mots-clés : Toxine fongique, Pouvoir pathogène, Résistance

Unité d'accueil : UMR 1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences (IRHS)

Nom, prénom du directeur de thèse : Pascal Poupard
Adresse mail : pascal.poupard@univ-angers.fr
Nom, prénom du co-encadrant de thèse 1 (le cas échéant) : Romain Berruyer
Adresse mail : romain.berruyer@univ-angers.fr
Nom, prénom du co-encadrant de thèse 2 (le cas échéant) : Nelly Bataillé-Simoneau

Adresse mail : nelly.bataille-simoneau@univ-angers.fr

Financement (origine et montant) : Contrat Doctoral Établissement, 96 k€ brut pour 3 ans, non acquis

Contact(s) (adresse postale) :

Institut de Recherche en Horticulture et Semences UMR 1345 (INRAE/Institut Agro/Université d'Angers) Campus du végétal Bâtiment A, 42 rue Georges Morel – CS 60057 - 49071 Beaucouzé cedex – France
Romain Berruyer : romain.berruyer@ univ-angers.fr
Pascal Poupard : pascal.poupard@univ-angers.fr

Nelly Bataillé-Simoneau : nelly.bataille-simoneau@univ-angers.fr

Mode de recrutement

Le mode de recrutement du doctorant dépend de la nature du financement du projet de thèse. Pour identifier le mode de recrutement, veuillez consulter le site web de l'ED EGAAL - cliquez ici. Le projet de thèse **ne sera pas** publié si cette information est manquante.

☒ **Concours** ☐ **Entretien** ☐ **Autre (précisez) :**

Toutes les rubriques de ce document doivent être remplies.
Une fois complété, merci d'enregistrer ce document au format pdf avec le nom suivant :
Nom du Directeur thèse_Unité_Acronyme du sujet_FR.pdf

DOCTORAT ECOLOGIE
BRETAGNE GEOSCIENCES
LOIRE AGRONOMIE ALIMENTATION

DESCRIPTION SCIENTIFIQUE DU PROJET DE THÈSE

Contexte socio-économique et scientifique : (10 lignes)

Le caractère souvent durable des résistances quantitatives en fait une intéressante méthode de lutte alternative à l'usage de pesticides. Néanmoins, les niveaux de résistance obtenus par les sélectionneurs sont souvent insuffisants. L'un des obstacles à l'obtention de variétés résistantes est la méconnaissance des mécanismes impliqués. Cependant, certains mécanismes possibles ont été proposés[1], dont la résistance de la plante aux toxines produites par l'agent pathogène. Dans le cas de l'interaction carotte-*Alternaria dauci*, une des toxines produites par le champignon, l'aldaulactone, semble centrale, à la fois dans l'expression du pouvoir pathogène et dans les mécanismes de résistance partielle (Courtial *et al.*, 2018). En effet, nous avons montré une corrélation entre production d'aldaulactone et pouvoir pathogène, d'une part ; et une corrélation entre résistance de la plante entière au champ et résistance de suspensions cellulaires à l'aldaulactone, d'autre part. Dans certains cas, une activation du métabolisme des cellules de carottes résistantes par les toxines fongiques a même été observée[2].

Hypothèses et questions scientifiques (8 lignes)

L'objectif de cette thèse sera d'élucider les mécanismes de la synthèse de l'aldaulactone, mais aussi ceux de sa toxicité et enfin les mécanismes de résistances de la carotte face à cette toxine. Notre hypothèse de travail est qu'un cluster de gènes du métabolisme secondaire que nous avons identifié (cluster 8, Courtial *et al.*, 2022) est responsable de la biosynthèse de l'aldaulactone par *A. dauci*. Chez les plantes sensibles, l'aldaulactone perturbe le métabolisme, ce qui aboutit à une mort cellulaire. Chez les plantes résistantes, la détection de l'aldaulactone aboutit à la mise en place de réactions de défenses. Dans ce cadre, cette thèse vise (1) à démontrer le rôle de ce cluster de gènes, (2) à montrer comment l'aldaulactone perturbe le métabolisme des cellules de carotte et (3) à découvrir les gènes impliqués dans les réactions de défenses de la plante face à cette toxine.

Principales étapes de la thèse et démarche (10-12 lignes)

La démonstration du rôle du cluster 8 dans la production d'aldaulactone se fera par deux approches complémentaires : obtention de souches KO *d'Alternaria dauci*, expression hétérologue des gènes du cluster 8 chez *Pichia pastoris.* Pour ces deux approches, des souches ont déjà été obtenues (Hussain A.G., stage M2, FungiSem, 2019, Gadras M., stage M2, FungiSem, 2020, Neau E., stage M1, FungiSem, 2021), mais leurs phénotypes, ainsi que leurs chémotypes, restent à établir. Dans une première étape, faire aboutir ces deux démarches déjà bien avancées peut-être rapidement la source d'une première publication. La seconde étape sera l'analyse bio-informatique des données RNAseq récemment obtenues à partir de suspensions cellulaires de deux variétés de carotte (une sensible, une résistante), confrontées ou non à l'aldaulactone. De cette analyse, complétée par des mesures d'expression par q-PCR, et qui donnera lieu à une seconde publication, devraient sortir des gènes candidats, potentiellement activés ou réprimés en présence d'aldaulactone, soit dans le cadre de sa toxicité (génotype sensible), soit dans celui des réactions de la plante face à cette toxine (génotype résistant). Une première analyse des résultats de RNAseq semble indiquer le rôle spécifique de protéines d'efflux dans la réaction du génotype résistant. L'extinction de ces gènes en utilisant une technique de type CRISPR-Cas9 maitrisée par nos collègues de l'équipe QuaRVeg permettra de démontrer leur rôle dans la résistance de la carotte face à cet agent pathogène, ce qui correspondrait à une, voire plusieurs publications supplémentaires.

Approches méthodologiques et techniques envisagées (4-6 lignes)

Cette thèse est l'occasion de combiner entre elles différentes compétences présentes au sein de FungiSem et de ses partenaires. En particulier, elle mettra en œuvre des techniques de biologie moléculaire, de bioinformatique et de transformation génétique disponibles au sein de l'équipe ; mais aussi des techniques de culture *in vitro* (culture de suspensions cellulaires de carotte, transgénèse, CrispR-Cas9) en collaboration avec QuaRVeg (L. Hamama, L. Voisine), et des techniques d'analyse chimique (HPLC, UPLC, RMN, Chromatographie FLASH) en collaboration avec l'unité SONAS (J.J. Helesbeux).

[1] Poland, J. A. *et al*. (2009) Trends in plant science, 14(1), 21–29.
[2] Lecomte, M. *et al*. (2014) PLoS ONE 9(7): e101008.