Proposition de sujet de Master 2

**Titre du stage :**

Étude de l’interaction pin maritime - Fomes (Heterobasidion annosum sensus stricto) par des approches de transcriptomique et de métabolomique.

**Thème du projet d’unité :**

Thème 2- Comprendre et prédire les phénotypes complexes

Priorité P1 : Décrire, décomposer les phénotypes complexes et définir des proxies

**Encadrant.e.s :**

J-C Leplé, F. Robledo-Garcia, C. Dutech

(Responsable du stage : J-C Leplé, Equipe xylomes)

NB : Projet inter-équipes GemFor et Xylomes

**Contexte scientifique**

Heterobasidion annosum sensus stricto est un champignon pathogène racinaire qui infecte de nombreuses espèces de résineux à travers le monde. Il cause de sérieux dégâts dans les forêts tempérées et boréales de l’hémisphère nord, en particulier dans les plantations de résineux, entraînant parfois de lourdes pertes économiques. Il est probable que ses populations soient en expansion dans différents massifs forestiers en raison du raccourcissement des cycles de récoltes, favorable à sa propagation, et des changements climatiques affaiblissant les arbres. Le massif des Landes de Gascogne s’étend sur près d’un million d’hectares dans le sud-ouest de la France et il est composé essentiellement d’une espèce plantée : le pin maritime (Pinus pinaster). Cette espèce est très sensible au Fomes, notamment dans cette région où l’importance des dégâts pourrait s’accroître significativement dans les prochaines décennies. Afin de mieux anticiper l’évolution des risques de propagation de ce pathogène, il est important 1) de caractériser les capacités adaptatives des populations du Fomes dans ce contexte environnemental changeant, et 2) d’explorer l’interaction H. annosum s.s. et P. pinaster afin de mieux caractériser le réservoir de résistance potentiel dans les populations d’amélioration de pin maritime.

L’interaction pin-fomes est classiquement étudiée par le biais d’inoculations artificielles sur des tiges de jeunes plants de pins en conditions contrôlées, voire sur des tiges excisées. La longueur des lésions nécrotiques ainsi que la propagation du champignon dans le bois sont généralement utilisées comme indicateurs de susceptibilité ou de résistance de l’hôte. Ainsi, ces approches ont permis d’identifier des QTLs (« quantitatif trait loci ») contrôlant la longueur de la lésion et la propagation du champignon dans le cas de l’interaction Picea abies – H. parviporum, ainsi que certains métabolites secondaires (métabolomique) ou certains gènes exprimés (transcriptomique) comme marqueurs potentiels de la résistance. Plusieurs études concluent que la nature de la résistance de l’hôte est polygénique. Il semble que cette résistance repose en partie sur la présence/absence de certains métabolites secondaires (terpénoides, composés phénoliques, lignanes, stilbènes…), exprimés de manière constitutive ou en réponse à l’infection par le pathogène. Ces résultats proviennent presque exclusivement d’expériences menées sur les interactions Picea abies – H. parviporum et Pinus sylvestris – H. annosum s.s. Il n’existe pas encore de données concernant les déterminants moléculaires de l’interaction H. annosum s.s. et P. pinaster.

**Matériel & Méthodes**

L’objectif du stage sera d’étudier les résultats obtenus sur une expérience d’infection par des souches d’ H. annosum s.s. en serre sur des tiges de jeunes plants de pins maritimes âgés de 2 ans. Cette expérimentation a été conçue pour répondre à cinq principales questions : 1) observe-t-on une variabilité dans la longueur des lésions nécrotiques ou de la propagation du champignon pour deux souches de H. annosum s.s précédemment identifiées comme présentant une virulence contrastée, 2) observe-t-on une variabilité de cette réponse en fonction de l’origine génétique des pins utilisés (6 familles landaises représentant la variabilité existante dans la population d’amélioration pour la croissance en volume à 35 ans), 3) la variabilité de résistance est-elle corrélée avec la présence de molécules connues pour être anti fongiques (phénylpropanoides, terpènes, flavonoïdes, acide β-aminobutyrique)? Peut-on mettre en évidence des cocktails chimiques en lien avec la résistance ?, 4) cette variabilité de résistance est-elle corrélée à l’expression de certains gènes, eux même potentiellement impliqués dans le métabolisme des composés identifiés en métabolomique, ou dans certaines voies de régulation des stress biotiques et/ou abiotiques etc… et 5) des conditions de contraintes abiotiques telles que la sécheresse affectent-elles la résistance au pathogène, les gènes exprimés et le métabolome exploré ?

Pour ce faire, le plan expérimental comporte dix individus pour chaque condition testée : témoins d’inoculation, inoculation avec souche 1 ou 2, condition hydrique normale ou sous contrainte, et six familles landaise étudiées. Pour des raisons de coût, les analyses de transcriptome et de métabolome seront réalisées uniquement sur les échantillons de trois individus issus des deux familles Landaise les plus contrastées pour la production de bois estimée à 35 ans (soit 36 échantillons).

La taille des nécroses ainsi que la propagation du champignon dans le bois, obtenues après plusieurs semaines d’infection seront mesurées et analysées en associant des paramètres physiologiques des pins (taille, croissance, …). Ces données seront acquises à l’automne 2024 et donc disponibles au début du stage.

L’étudiant-e aura en charge la préparation des extraits d’ARN totaux à partir des 36 échantillons de bois récoltés et concernés à -80°C ainsi que la préparation des échantillons destinés aux analyses du métabolome qui seront par ailleurs réalisées par la Plateforme Bordeaux Métabolome. La plus grande partie du stage sera consacrée à l’analyse des données de croissance des pins, de nécrose, de propagation fongique dans les tiges de l’hôte, de transcriptomique et de métabolomique. Il s’agira principalement de réaliser des analyses exploratoires de données et des analyses de variances pour identifier des effets « Familles », « Souche », « Conditions hydriques » sur la taille des lésions et la distance de propagation du champignon. Pour mettre en évidence des corrélations entre taille des lésions et quantité de molécules ou de transcrits, des analyses d’expression différentielle et l’étude des réseaux de corrélation seront entrepris (ex : package R -DEseq2 ; WGCNA). Enfin, pour aller plus loin dans l’identification de marqueurs moléculaires (gènes et métabolites) discriminant les différents phénotypes observés (résistant/sensible, avec ou sans contrainte hydrique etc…) des analyses discriminantes avec sélection de variables pourront être explorées (ex : DIABLO du package R Mixomics).

Pour les expérimentations au laboratoire, une expérience pratique de biologie moléculaire est souhaitable. Pour les analyses de données, une bonne connaissance des méthodes statistiques (comparaison de moyennes, modèles linéaires généralisés, …) ainsi qu’une bonne pratique du logiciel R sont requises.

**Collaborations**

* Plateforme Génome Transcriptome de Bordeaux – contact : Erwan Guichoux (Lab manager)

* Plateforme Bordeaux Métabolome – contact : Pierre PÉTRIACQ (Directeur)