

## CRIBLAGE DE LA DIVERSITÉ D'ORYZA SPP. POUR L'IDENTIFICATION DE NOUVELLES SOURCES DE RÉSISTANCES DÉPENDANTES DES EFFECTEURS TAL A *X. ORYZAE PV. ORYZAE*, AGENT DE LA BACTÉRIOSE VASCULAIRE DU RIZ<sup>1</sup>

par Mathilde **Hutin**<sup>2</sup>

Dominique Job<sup>3</sup>. – La thèse de Mathilde Hutin, intitulée *Criblage de la diversité d'Oryza spp. pour l'identification de nouvelles sources de résistances dépendantes des effecteurs TAL à X. oryzae pv. oryzae, agent de la bactériose vasculaire du riz*, s'inscrit de manière générale dans l'étude des mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans la réponse des plantes aux bioagresseurs, dont les bactéries et les champignons phytopathogènes.

Au cours de l'évolution les plantes ont acquis des mécanismes de défense variés afin de lutter contre les différents types d'agents pathogènes présents dans leur environnement. La résistance des plantes aux maladies protège les plantes contre ces agents pathogènes de deux manières : par des mécanismes prédéterminés (eg., constitution des parois végétales) et par des réponses du système immunitaire induites par l'infection. La relation parasitaire débute par l'établissement d'un dialogue au niveau d'une interface, les racines, le collet, la partie lignifiée des organes aériens et les feuilles. De cette interface d'entrée va dépendre le mode d'invasion du pathogène et les défenses mises en place par la plante hôte.

*Xanthomonas oryzae pv. oryzae* (*Xoo*) est l'agent causal de la bactériose vasculaire du riz, une maladie dévastatrice dans de nombreux pays rizicoles (le riz est la première céréale mondiale pour l'alimentation humaine). Chez cette bactérie, les effecteurs de type TAL (Transcription Activator-Like) jouent un rôle majeur dans le pouvoir pathogène. En effet, ces effecteurs, qui sont sécrétés à l'intérieur des cellules eucaryotes hôtes par le système de sécrétion de type III de *Xanthomonas*, agissent comme de véritables facteurs de transcription capables de manipuler le transcriptome de l'hôte (c'est-à-dire l'expression de son génome nucléaire) via l'induction de gènes spécifiques. Un TAL peut ainsi agir comme une protéine de virulence via l'induction de gènes dits de sensibilité (S) et dont l'activation est nécessaire au développement de la maladie, ou comme protéine d'avirulence via l'induction d'un gène dit exécuteur (E), dont l'activation promeut les réponses de défense de la plante. À noter dans ce contexte l'importance biotechnologique grandissante des nucléases TALENs (Transcription activator-like effector nucleases) pour l'édition ciblée des génomes eucaryotes, par exemple afin d'inactiver des gènes responsables de maladies génétiques chez l'homme ou créer de nouvelles variétés de plantes performantes qui ne soient pas assimilables à des OGM. Ces nucléases sont des enzymes de restriction artificielles générées par fusion d'un domaine de liaison, un élément TAL, à l'ADN avec un domaine ayant la capacité d'induire des cassures double brin de l'ADN.

La sélection de variétés de plantes génétiquement résistantes représente une stratégie très prometteuse pour lutter durablement contre les bactéries phytopathogènes. Néanmoins, cette approche nécessite des sauts conceptuels dans les modes de sélection de variétés d'intérêt agronomique résistantes. Dans cet esprit, l'objectif de cette thèse, réalisée sous la codirection de Boris Szurek et Ralf Koebnik (UMR IPME), concerne l'identification et la caractérisation de nouvelles sources de résistance dépendantes des effecteurs de type TAL pour contrôler la bactériose vasculaire du riz causée par des souches africaines de la

<sup>1</sup> Thèse soutenue le 27 novembre 2015 et préparée au sein de l'école doctorale SIBAGHE (spécialité : Biologie des interactions ; Université Montpellier 2) et de l'unité de recherche IPME (UMR Interactions plantes, microorganismes, environnement IRD/CIRAD/Université Montpellier 2).

<sup>2</sup> Department of Plant Pathology and Plant-Microbe Biology, Cornell University, Ithaca, NY.  
Courriel : mathildehutin1@gmail.com

<sup>3</sup> Membre de l'Académie d'Agriculture de France, Directeur de recherche émérite du CNRS.

bactérie *Xoo*. Le mémoire de thèse, qui comporte environ 250 pages, est de lecture agréable et est fort bien illustré.

L'Introduction correspond à une analyse bibliographique bien documentée. Elle permet d'introduire les concepts généraux sur les interactions plantes-pathogènes ; le riz, plante modèle étudié au cours du travail de thèse ; le genre *Xanthomonas* et les effecteurs de type III, les effecteurs de type TAL, au centre de ce travail de thèse, leurs cibles végétales, leur rôle dans la sensibilité et la résistance de la plante ainsi que leurs possibles applications biotechnologiques (ingénierie de la résistance des plantes cultivées). L'Introduction présente également la bactérie *Xanthomonas oryzae*, une attention particulière étant portée sur les souches africaines.

Le chapitre Résultats comprend trois parties principales. La première traite de la recherche de polymorphisme nucléotidique au niveau du promoteur d'un gène de sensibilité, nommé *OsSWEET14*, au sein d'une large collection de riz sauvages africains (*Oryza longistaminata* et *O. barthii*) et cultivés d'Afrique (*O. glaberrima*) et d'Asie (*O. sativa*). Chez le riz, les gènes de sensibilité à *Xoo* les mieux caractérisés sont en effet ceux du clade III de la famille SWEET des transporteurs de sucres. De plus, l'un d'entre eux, *OsSWEET14*, est particulièrement important dans le cadre de cette thèse car il est ciblé par quatre effecteurs TALs différents et issus de souches de *Xoo* appartenant à des lignées génétiques distinctes et d'origines géographiques différentes. Les travaux de Mathilde Hutin ont conduit à un résultat majeur et original : la caractérisation d'un nouvel allèle du gène *OsSWEET14* chez *O. barthii* et *O. glaberrima*, nommé *xa41(t)*, contenant une délétion du promoteur de 18 paires de bases qui chevauche les séquences d'ADN reconnues par trois TAL et conférant ainsi une résistance récessive et à large spectre à la bactériose vasculaire du riz par perte de sensibilité. Ce résultat démontre de manière éclatante qu'un crible moléculaire basé sur la connaissance des effecteurs de type TAL et de leurs séquences cibles permet l'identification d'allèles de résistance chez les plantes.

La seconde partie du chapitre Résultats porte sur la recherche et la caractérisation des sources de résistance élicitées par des TAL au sein d'une collection de 74 variétés de riz. Ce travail a permis d'identifier une dizaine de gènes candidats de résistance de type exécuter induits par *Xoo*.

Dans la troisième partie du chapitre Résultats, des TALs artificiels sont utilisés pour l'activation de protéines de résistance de type NB-LRR, les protéines RGA4/RGA5, qui confèrent la résistance contre la pyriculariose du riz causée par le champignon *Magnaporthe oryzae*. De manière surprenante et intéressante, les résultats montrent que l'activation des réponses de défense induites par ces deux protéines permettent également de contrôler des maladies causées par des bactéries vasculaires (*Xoo*) et non-vasculaires (*Xoc*). Une stratégie similaire a été également utilisée pour activer l'expression du gène *RGA4* (précédemment décrit comme auto-activateur des réponses immunitaires dans l'interaction riz-*M. oryzae*), ce qui conduit aussi à une résistance face à *Xoo*. Ce travail démontre ainsi que des gènes de type NB-LRR peuvent agir en tant qu'exécuter chez le riz et que les réponses immunitaires déclenchées par leur activation sont efficaces dans le contrôle des maladies induites par des souches de *X. oryzae* présentant différents modes d'invasion de la plante. De fait, ces recherches ouvrent de nouvelles perspectives pour la protection de cultures.

En conclusion, le travail effectué par Mathilde Hutin représente une contribution extrêmement originale. Il illustre que l'approfondissement des connaissances sur le dialogue moléculaire entre les plantes et leurs bioagresseurs peut conduire à des avancées scientifiques majeures au plan fondamental, qui seront source d'applications nouvelles en sélection végétale. La démonstration que les réactions de défense induites par un gène de résistance au champignon *M. oryzae* sont également fonctionnelles contre la bactérie *X. oryzae* ouvre de nouvelles perspectives originales quant aux stratégies de contrôle des bactérioses dues à *Xanthomonas*, maladies dévastatrices qui affectent un très grand nombre de plantes d'intérêt économique pour l'humanité (eg., riz, coton, tomate, soja...), notamment concernant le développement d'outils de modification ciblée des génomes (édition des génomes).

**Publications associées à la thèse**

- (1) STREUBEL J., PESCE C., HUTIN M., KOEBNIK R., BOCH J., SZUREK B., 2013. – Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytologist* **200**(3), 808-919
- (2) HUTIN M., SABOT F., GHESQUIÈRE A., KOEBNIK R., SZUREK B.A., 2015. – Knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum *OsSWEET14* resistance allele to bacterial blight from wild rice. *The Plant Journal* **84**(4), 694-703.
- (3) HUTIN M., PÉREZ-QUINTERO A.L., LOPEZ C., SZUREK B., 2015. – MorTAL Kombat: the story of defense against TAL effectors through loss-of-susceptibility. *Frontiers in Plant Science* **6**, 535.
- (4) WONNI I., HUTIN M., OUEDRAGO L., SOMDA I., VERDIER V., SZUREK B., 2016. – Evaluation of elite rice varieties unmasks new sources of broad-spectrum bacterial blight and leaf streak resistance for Africa. *RICE*, Accepté pour publication
- (5) HUTIN M., CESARI S., CHALVON V., TRAN T-T., BOCH J., KOEBNIK R., SZUREK B., KROJ T., 2016. – The rice blast pair of resistance genes *RGA4/RGA5* confers resistance against bacterial leaf blight and leaf streak diseases. Soumis à *The Plant Journal*