

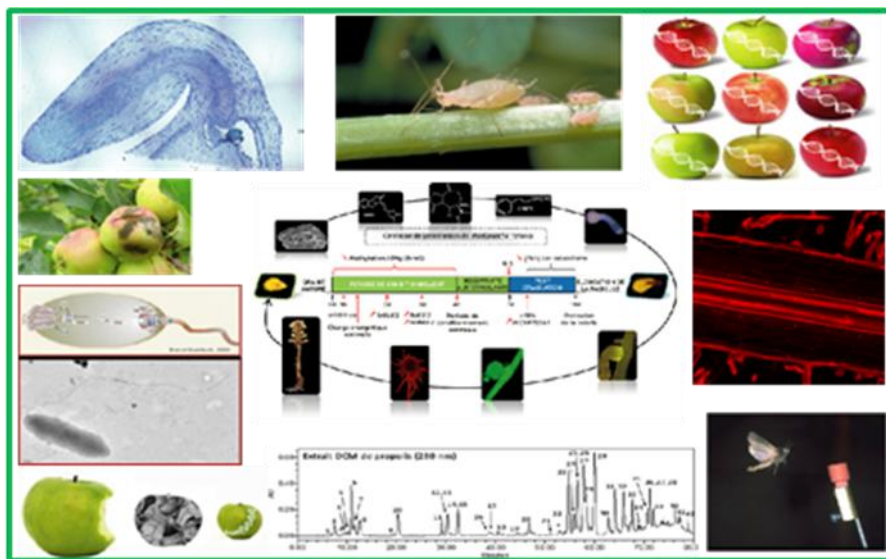


Journée des doctorants de la SFR QUASAV

6^{ème} édition

Jeudi 28 Novembre 2013

UFR Sciences – Bâtiment L – Amphithéâtre L003



Programme sur <http://www.sfrquasav-angers.org>



PROGRAMME

9h10 Ouverture de la journée des doctorants

1) 9h15 – 9h45 Khaled AL SABIL (SONAS)

Synthèse, hémisynthèse et évaluation de composés en série tocotriénol

2) 9h45 - 10h15 Séverine BOISARD (SONAS)

Caractérisation chimique et évaluation des activités antioxydante et anti-AGEs d'extraits de propolis française

3) 10h15 – 10h45 Sandrine MIKOL (IRHS)

La farinosité : du fruit aux gènes

10h45 – 11h15: PAUSE

4) 11h15 – 11h45 Marie DE GRACIA (IRHS)

Génomique évolutive de l'agent pathogène de la tavelure du pommier, *Venturia inaequalis*, dans le cadre de la domestication de son hôte

5) 11h45 – 12h15 Diane LEFORESTIER (IRHS)

Recherche de facteurs de résistance à la tavelure et au feu bactérien par génétique d'association dans une core collection de pommiers

12h15 – 13h30: PAUSE DEJEUNER

6) 13h30 – 14h00 Arnaud INDIANA (IRHS)

Rôle du chimiotactisme dans la spécificité d'hôte des *Xanthomonas*

7) 14h00 – 14h30 Marc-Marie LECHAT (LBPV)

CYP707A1, un gène de catabolisme de l'ABA, est un composant ubiquitaire de la germination des graines des plantes parasites en réponse à des stimulants de germination

8) 14h30 – 15h00 Chvan YOUSSEF (IRHS)

Bases génétiques de la croissance hétérotrophe chez *Medicago truncatula* ; impact de stress abiotiques

15h00 – 15h30: PAUSE

9) 15h30 – 16h00 Anthoni PELLIZZARO (IRHS)

Caractérisation du transporteur de nitrate MtNRT1.3 de *Medicago truncatula* : rôles dans la perception du signal nitrate

10) 16h00 – 16h30 Emiliane TAILLEBOIS (RCIM)

Mécanismes de toxicité d'insecticides néonicotinoïdes chez le puceron du pois

11) 16h30 – 17h00 Antoine ABRIEUX (RCIM)

Rôle d'un récepteur à double affinité Ecdysone-Dopamine (DopEcR) dans la plasticité de l'olfaction chez le papillon de nuit, *Agrotis ipsilon*

A partir de 17h00: Délibération du jury et Remise des Prix

Synthèse, hémisynthèse et évaluation de composés en série tocotriénol

Khaled AL SABIL, Jean-Jacques HELESBEUX, Denis SERAPHIN.

Khaledsabil88@yahoo.com

*Laboratoire Substances d'Origine Naturelle et Analogues Structuraux
(SONAS, UPRES EA 921, SFR 4207 QUASAY)
UFR des Sciences Pharmaceutiques et d'Ingénierie de la Santé
Bâtiment IBT, 10 rue André Boquel-49100 ANGERS*

Lors de l'étude phytochimique de *Garcinia amplexicaulis* réalisée au SONAS, douze nouveaux dérivés type tocotriénol ont été isolés à partir d'extraits dichlorométhaniques d'écorces et de tiges [1]. Le métabolite secondaire majoritaire est le δ -amplexichromanol qui se distingue par la présence d'une fonction type diol allylique à l'extrémité de la chaîne carbonée latérale. Afin d'améliorer le potentiel anti-angiogénique de ce composé, nous avons profité, dans un premier temps, de la réactivité de la fonction phénol pour accéder à une nouvelle série d'analogues de tocotriénol. La modification de la partie fonctionnelle (OH) suscite à l'heure actuelle le plus d'intérêt conduisant notamment à des analogues de la vitamine E avec une meilleure activité antitumorale [2-5]. Par ailleurs, il a été démontré que les analogues de la vitamine E sont rapidement métabolisés via une ω -oxydation suivie par une série de β -oxydations conduisant au produit final type carboxyéthyle hydroxychromane (CEHC) [6]. Nous avons tenté, dans un deuxième temps, de transformer le diol allylique en hétérocycles azoté ou oxygéné afin de diminuer voire empêcher la métabolisation. L'éventuel impact de ces modifications structurales sur l'activité biologique de ces composés sera étudié dans différents domaines (anti-angiogénique, anti-inflammatoire, antioxydant, etc....).

Mots clés: G. Amplexicaulis, δ -amplexichromanol, anti-angiogénèse, tocotriénol, β -oxydation.

Références:

- [1] A. Lavaud. *Métabolites de Clusiaceae: une action sur l'endothélium vasculaire ? Thèse de doctorat : Université d'Angers, 2012, 365 p.*
- [2] A. Y. Elnagar, V. B. Wali, P. W. Sylvester, K. A. El Sayed, *Bioorg. Med. Chem.* 18 (2010) 755-768.
- [3] F. A. Behery, A. Y. Elnagar, M. R. Akl, V. B. Wali, B. Abuasal, A. Kaddoumi, P. W. Sylvester, K. A. El Sayed, *Bioorg. Med. Chem.* 18 (2010) 8066-8075.
- [4] C. Stantinou, A. Papas, A. I. Constantinou, *Int. J. Cancer.* 123 (2008), 739-752.
- [5] A. Tomic-Vatic, J. E. Tina, J. Chapman, E. Mahdavian, J. Neuzil, B. A. Salvatore, *Int. J. Cancer.* 117 (2005) 188-193.
- [6] M. Birringer, P. Pfluger, D. Kluth, N. Landes, R. Brigelius-Flohe, *J. Nutr.* 132 (2002) 3113-3118.

Caractérisation chimique et évaluation des activités antioxydante et anti-AGEs d'extraits de propolis française

Séverine Boisard^a, Anne-Marie Le Ray^a, Marie-Christine Aumond^a, Patricia Blanchard^a, Séverine Derbré^a, Catherine Flurin^b, Pascal Richomme^a

severine.boisard@etud.univ-angers.fr

^a EA 921 SONAS/SFR 4207 QUASAV, Université d'Angers, 16 Boulevard Daviers, 49045 Angers cedex 01

^b Ballot-Flurin Apiculteurs, La miellerie, Chemin de Balas, 65700 Lahitte-Toupière

L'accumulation dans les tissus et le sérum des produits terminaux de la glycation (AGEs pour **A**dvanced **G**lycation **E**nd-products) joue un rôle important dans des pathologies telles que certains diabètes, l'athérosclérose, la maladie d'Alzheimer ou encore l'insuffisance rénale. Il existe alors un réel intérêt thérapeutique dans la recherche de composés capables d'abaisser les taux intra et extracellulaires des AGEs. Ainsi, la glycation et le stress oxydant étant étroitement liés, des antioxydants naturels possédant de véritables capacités anti-AGEs représenteraient de bons candidats pour la prévention de ces maladies et de leurs complications¹. Cette étude consiste à évaluer les activités antioxydante et anti-AGEs d'un lot de propolis (substance résineuse collectée par les abeilles sur différents arbres), puis d'identifier les principaux composés responsables de ces effets.

Un échantillon de propolis, composé de 24 lots collectés en France (majoritairement dans le sud-ouest) en 2010 et 2011, a été extrait par cinq différents solvants (eau, EtOH 70%, MeOH, DCM et DCM/MeOH/eau 31/19/4). La composition phytochimique des extraits a été déterminée au moyen d'analyses HPLC/DAD/MS et RMN ¹H et ¹³C (1 ou 2 dimensions) après purification lorsque cela était nécessaire. Les activités antioxydantes et anti-AGEs de ces extraits ont été évaluées respectivement par les méthodes DPPH et ORAC, et par le biais d'un test automatisé récemment développé au laboratoire SONAS et basé sur la capacité des extraits ou molécules à inhiber la formation des AGEs fluorescents². Un fractionnement bio-guidé de l'extrait DCM a été réalisé dans le but d'identifier les composés anti-AGEs les plus actifs.

Les extraits de propolis sont tous composés d'acides et d'esters phénoliques ainsi que de flavonoïdes, excepté l'extrait aqueux qui contient uniquement les acides phénoliques. La propolis française étudiée appartient ainsi au type peuplier (type européen)³. Tous les extraits possèdent une très bonne activité antioxydante, 2 à 5 fois supérieure à celle de l'extrait de romarin, récemment approuvé en tant qu'antioxydant naturel dans l'union européenne (E392)⁴. Ils présentent également tous, hormis l'extrait aqueux, une très forte activité anti-AGEs ($0,03 \leq IC_{50} \leq 0,05$ mg/ml) principalement due à la pinobanksine-3-acétate ($IC_{50}=0,06$ mM), leur composé majoritaire. La propolis étudiée apparaît donc comme une substance naturelle de choix dans la prévention de maladies impliquant les AGEs.

Mots clés : propolis, composés phénoliques, flavonoïdes, antioxydant, anti-AGEs

Références :

- (1) Ahmed, N. Advanced Glycation Endproducts—role in Pathology of Diabetic Complications. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2005**, *67*, 3–21.
- (2) Derbré, S.; Gatto, J.; Pelleray, A.; Coulon, L.; Séraphin, D.; Richomme, P. Automating a 96-well Microtiter Plate Assay for Identification of AGEs Inhibitors or Inducers: Application to the Screening of a Small Natural Compounds Library. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *398*, 1747–1758.
- (3) Rubiolo, P.; Casetta, C.; Cagliero, C.; Brevard, H.; Sgorbini, B.; Bicchi, C. Populus Nigra L. Bud Absolute: a Case Study for a Strategy of Analysis of Natural Complex Substances. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 1223–1235.
- (4) Official Journal of European Union – Directive **2010/67/UE** - L 277/17.

La farinosité : du fruit aux gènes

Mikol S., Bruneau M., Celton J.-M., Orsel M., Laurens F., Renou J.-P^{1,2,3}

sandrine.mikol@angers.inra.fr

(1) INRA, UMR1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences, SFR 4207 QUASAV Angers, France; (2) AgroCampus-Ouest, UMR1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences, F-49045 Angers, France; (3) Université d'Angers, UMR1345 Institut de Recherche en Horticulture and Semences, F-49071 Beaucouzé, France.

La pomme est un des fruits les plus consommés au monde. Développer les connaissances scientifiques des processus de maturation s'avère nécessaire pour répondre aux exigences du consommateur et de la profession. C'est effectivement au cours de la maturation que s'élabore la qualité organoleptique du fruit au travers de modifications physiologiques et biochimiques (accumulation des sucres, modification de la texture, production d'arômes...). Certaines variétés présentent un processus de maturation altéré conduisant à « la farinosité ». Ce caractère est décrit comme étant une texture granuleuse et sèche en bouche (Harker et Hallett, 1992). Malgré de nombreuses études portant sur la maturation du fruit, les connaissances sur les processus moléculaires mis en jeu restent très parcellaires. Le séquençage récent du pommier (Velasco *et al.*, 2010) ouvre de nouvelles perspectives notamment avec le développement de la puce AryANE v1.0. Cette étude constitue la première étude de l'ensemble du transcriptome de pommes. Elle a été réalisée à partir de 6 hybrides, issus d'un même croisement et ayant des textures contrastées, au niveau sensoriel, biochimique et transcriptomique. L'association entre les phénotypes et les profils d'expressions a permis d'identifier une pectine méthyle-estérase particulière. Le clonage de la PME est en cours pour une validation fonctionnelle ultérieure. Une étude complémentaire à porter sur 4 variétés afin de mieux décrire le phénotype observé au niveau histologique. Par ailleurs, la mise en regard des données transcriptomiques de ces deux expériences a permis l'identification de nouveaux gènes candidats potentiellement impliqués dans la régulation du développement de la farinosité. Le rôle clé de ces gènes sera validé par l'analyse de leur expression dans un sous-ensemble d'individus de la core-collection Malus (Lassois *et al.*, soumis).

Mots clés : pomme, farinosité, transcriptome, paroi primaire

Références :

Harker, F. R. et Hallett, I. C. (1992). *Physiological Changes Associated with Development of Mealiness of Apple Fruit during Cool Storage*. *HortScience* 27: 1291-1294.

Lassois *et al.*, 2013. *Assessment of genetic diversity and structure of French apple germplasm and construction of nested core collections, based on simple sequence repeat (SSR) marker analysis*. (in preparation).

Velasco, R., Zharkikh, A., *et al.* (2010). *The genome of the domesticated apple (Malus [times] domestica Borkh.)*. *Nat Genet* 42: 833-839.

Génomique évolutive de l'agent pathogène de la tavelure du pommier, *Venturia inaequalis*, dans le cadre de la domestication de son hôte

Marie DE GRACIA¹, Christophe LEMAIRE¹ et Bruno LE CAM¹

Marie.de-gracia@angers.inra.fr

¹IRHS (INRA / Université d'Angers) Equipe EcoFun (Ecologie Evolutive des champignons)

La domestication des plantes a totalement affecté le sort des hommes en jouant un rôle crucial dans le passage de la chasse et la cueillette à l'agriculture¹. Elle se définit comme étant le processus évolutif par lequel la sélection par l'Homme sur le phénotype de populations sauvages de plantes, conduit à des modifications dans les génotypes de ces populations les rendant ainsi plus utiles à l'Homme². Actuellement, l'impact de la domestication des plantes est une problématique largement étudiée chez de nombreuses cultures céréalières. On constate généralement que les espèces sauvages présentent une diversité génétique plus faible que les espèces cultivées et ainsi montrer des traits phénotypiques différents³. Cependant, qu'en est-il des populations de pathogènes qui cohabitent avec ces hôtes ? Quel a été l'impact de la domestication de leur hôte sur leur structure et leur dynamique de population ? Existe-t-il un « syndrome de domestication » sur les pathogènes associés ?

Dans cette étude, nous nous intéressons au processus d'émergence de la tavelure du pommier, la principale maladie du pommier domestique. L'objectif de cette étude vise à comprendre quelles ont été les conséquences de la domestication du pommier sur l'émergence, la dynamique et l'évolution des populations du champignon pathogène, *Venturia inaequalis*. Mon travail se base sur le reséquençage de 40 souches de *Venturia inaequalis*, provenant de la zone de domestication du pommier, le Kazakhstan. Nous disposons de 20 souches CAM (Central Asia Mountains) que l'on considère comme des souches ancestrales et 20 souches CAP (Central Asia Plains) formant la population dite « domestique ». D'après des études antérieures réalisées au laboratoire, on peut admettre que la population CAP est un sous échantillon de la population CAM. Lors de la dissémination du pommier via les routes de la soie, les souches CAP se sont dispersées de part et d'autre du Kazakhstan. Ainsi, un flux génique est possible en début de domestication. Puis dans un second temps, l'apparition d'un ensemble de barrières reproductives peut s'installer entre les 2 populations, favorisant leur divergence lors de la dispersion. Cependant, le pommier est cultivé sur les plaines Kazakhes. L'hypothèse d'un nouveau flux de gènes entre les 2 populations est possible à l'heure actuelle.

Des études préliminaires suggèrent que la propagation de *V. inaequalis* dans les agrosystèmes a conduit à des changements dans la virulence et à une augmentation de l'agressivité des souches. Ces faits nous ont conduit à réaliser une comparaison phénotypique entre les 2 populations Kazakhes afin de tester l'effet de la domestication du pommier sur certains caractères phénotypiques du pathogène. Les données démontrent l'existence d'un syndrome de domestication. Le passage du compartiment sauvage à un agrosystème cultivé a engendré des modifications significatives des traits d'histoire de vie du pathogène : la population CAP présente un taux de sporulation et des diamètres de spores supérieurs à ceux de la population CAM. Ces changements phénotypiques suggèrent qu'il existe un déplacement de caractère causé par l'adaptation du pathogène fongique à une modification de son environnement de vie⁴. Ces résultats dévoilent l'importance à consacrer, d'un point de vue épidémiologique, au trade off entre la survie et la dissémination des populations de pathogène en lien avec la configuration des plantes hôtes.

La première étude de comparaison phénotypique a permis de mettre en évidence la divergence entre les populations CAM et CAP de *V. inaequalis* due à la domestication de son hôte. Par la suite, le syndrome de domestication est abordé à travers d'une comparaison génomique. Dans un premier temps, une estimation de l'histoire évolutive de *Venturia inaequalis* a été réalisée sur la base de marqueurs AFLP. Le scénario démographique retenu est celui d'un contact secondaire : après une période de divergence sans flux de gène, les deux populations échangent de nouveau⁵. C'est au travers de ce cadre évolutif, potentiellement caractérisé par une zone hybride active, que l'on tente de déterminer la nature des barrières géniques en place et de mettre en avant les causes de son maintien. L'alignement total des 40 génomes a été réalisé dans le but de réaliser une HapMap, permettant l'analyse du polymorphisme sur l'ensemble des génomes⁶. Les perspectives de ce travail seront par la suite de mieux comprendre les dynamiques par lesquelles les pathogènes s'adaptent à leur environnement afin, à terme, d'être en mesure de réduire la quantité de phytosanitaires utilisée et d'assurer une gestion plus durables des résistances

Mots clés : *Venturia inaequalis*, Domestication, Kazakhstan, Génomique comparative, Emergence

Références :

1 : Diamond J., 2002. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature*, **418** : 700-7.

2 : Clement C.R., 1999. 1492 and the loss of Amazonian crop genetic resources. I. The relation between domestication and human population decline. *Economic Botany*, **53** : 188-202.

3 : Stukenbrock E.H. & McDonald B.A., 2008. The origins of plant pathogens in agroecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, **46** : 75-100.

4 : Glémin S., & Bataillon T., 2009. A comparative view of the evolution of grasses under domestication. *New Phytologist*, **183** : 273-290.

5 : Roux C., 2010. Effets de la sélection naturelle et de l'histoire démographique sur les patrons de polymorphisme nucléaire. 135pp. Université de Lille I, Lille.

6 : Gore M.A., Chia J.M., Elshire R.J, et al., 2009. A first-generation haplotype map of maize. *Science*, **326** : 1115-1117.

Recherche de facteurs de résistance à la tavelure et au feu bactérien par génétique d'association dans une core collection de pommiers

D. Leforestier¹, E. Ravon², A. Bérard³, D. Brunel³, H. Muranty², C.E. Durel²

diane.leforestier@angers.inra.fr

¹ Université d'Angers, UMR1345 IRHS, F-49045 Angers, France, LUNAM université, France

² INRA, UMR1345 IRHS, F-49045 Angers, France

³ INRA, UE1279 EPGV, F-91057 Evry, France

L'un des principaux enjeux de la biologie végétale moderne est de comprendre les déterminants génétiques et moléculaires des traits phénotypiques complexes afin de modéliser puis prédire leurs variations dans le temps et l'espace en fonction des variations et pressions qu'ils subissent (sélection artificielle ou naturelle, environnement). Depuis quelques années, la génétique d'association a progressivement été intégrée dans les études des bases génétiques de caractères agronomiques menées sur les plantes, et apparaît aujourd'hui comme l'un des moyens les plus adaptés à l'étude des espèces pérennes pour lesquelles des données phénotypiques ont pu être collectées depuis de nombreuses années. L'INRA d'Angers possède une grande collection de variétés de pommier *Malus x domestica* (couteau et cidre). Des analyses de diversité ont été menées sur cette collection et ont conduit à la constitution d'une core collection d'environ 250 individus à couteau [1]. Notre but est l'étude de ces individus tant au niveau de la diversité nucléotidique, pour analyser l'histoire de la sélection à l'intérieur de cette population, qu'au niveau de la recherche de facteurs génétiques contrôlant la variation de caractères d'intérêt agronomique en réalisant une étude de génétique d'association à l'échelle du génome entier (GWAS [2]).

Le génotypage des individus a été réalisé selon deux techniques. Les individus de la core collection (variétés anciennes de pommiers à couteau) et des individus supplémentaires (pommiers à cidre, variétés témoin, pommiers sauvages) ont tout d'abord été re-séquencés au niveau de 96 fragments de gènes répartis dans 6 régions du génome connues pour contenir des QTLs de caractères d'intérêt (résistance à deux maladies, qualité du fruit et architecture). Une partie de ces individus a ensuite été génotypée à l'aide d'une puce 8K SNP [3]. En parallèle, des tests pathologiques ont été menés en serre dans le but d'évaluer pour chaque variété étudiée le niveau de résistance à deux maladies du pommier, la tavelure causée par le champignon *Venturia inaequalis* (inoculum mono- ou multi-souches) et le feu bactérien causée par la bactérie *Erwinia amylovora*.

Les données ainsi recueillies permettent dans un premier temps d'étudier l'histoire de la sélection à l'intérieur d'une population de pommiers grâce à des analyses de diversité nucléotidique. La seconde partie de l'analyse concerne l'étude de génétique d'association, au niveau des 6 régions ciblées puis du génome entier, et est décomposée en deux temps. Une étude préliminaire concerne l'étendue et la structure du déséquilibre de liaison (DL) qui apparaît décroître rapidement avec la distance physique ($r^2 < 0.2$ dès 35-50 kb) et ne pas être significativement différente entre pommiers à cidre et pommiers à couteau. La seconde partie correspond à la GWAS en elle-même par confrontation des données de phénotypage et de génotypage (qui vont être prochainement étoffées par la mise en place d'une puce 420K SNP). Les résultats attendus devraient nous permettre (i) de préciser finement les régions du génome qui contrôlent la variation des caractères de résistance ciblés, et (ii) d'inférer l'histoire et éventuellement l'origine allélique de certaines de ces régions au sein de la population étudiée.

Mots clés : *Malus domestica*, déséquilibre de liaison, GWAS, histoire de sélection, diversité génétique

Références :

[1] Lassois et al., 2013. Genetic diversity, population structure, parentage analysis and construction of nested core collections in the French apple germplasm based on microsatellite markers (in preparation)

[2] Ingvarsson, P. K. and N. R. Street, 2011. Association genetics of complex traits in plants. *New Phytol* 189(4): 909-922

[3] Chagné et al., 2012. Genome-wide SNP detection, validation, and development of an 8K SNP array for apple. *PloS One*; 7(2): e31745

Rôle du chimiotactisme dans la spécificité d'hôte des *Xanthomonas*.

Indiana Arnaud, Guillaumes Jacky, Préveaux Anne, Darrasse Armelle, Jacques Marie-Agnès

arnaud.indiana@gmail.com

Institut de Recherche en Horticulture et Semences, équipe EmerSys, 42 rue Georges Morel, 49071, Beaucozuté.

Les *Xanthomonas* sont des bactéries, phytopathogènes ou non, associées aux parties aériennes des plantes. Leur adaptation à l'hôte est engagée dès les étapes précoces de l'interaction avec la plante. Leurs répertoires des gènes codant des senseurs et adhésines corrént avec le regroupement de souches en pathovar et leur gamme d'hôte. Les MCP sont les senseurs du chimiotactisme permettant la détection de signaux dans l'environnement et leur transmission au flagelle. Ainsi, les bactéries peuvent se diriger vers un environnement favorable ou en éviter un défavorable. L'objectif est de démontrer l'implication du chimiotactisme dans la spécificité d'hôte de *X. campestris* pv. *campestris* ATCC33913 (Xcc). Trois mutants ont été construits et complémentés. *XccΔfliC* est délété du gène codant la flagelline, principal composant du flagelle, *XccΔcheY* de *cheY*, gène codant un transducteur clé du signal chimiotactique et *XccΔmcp0324* d'un MCP spécifique de Xcc. *XccΔfliC* est non mobile *in vitro* mais chimiotactique. *XccΔcheY* est mobile mais non tactique. Ce mutant pénètre plus facilement que le parent dans les tissus de plantes non hôtes (tomate, haricot et giroflée). Il est altéré dans sa capacité à coloniser les feuilles de radis et à s'internaliser dans les tissus de l'arabette, plantes hôtes. *XccΔmcp0324* s'internalise efficacement dans les tissus foliaires des plantes non hôtes, contrairement au parent qui reste confiné à la surface des feuilles. En revanche, il est affecté dans sa capacité à s'internaliser dans les tissus foliaires de l'arabette, contrairement à la souche parentale. Ce senseur détecterait une molécule répulsive chez la plante non hôte et une attractive chez la plante hôte. Ce senseur n'élécite pas directement les défenses d'une plante non hôte. Le chimiotactisme joue un rôle important dans la colonisation des plantes par Xcc, conduisant ou non à son internalisation dans les tissus, selon qu'elles sont hôtes ou non hôtes c'est-à-dire attractives ou répulsives. Ce travail ouvre des perspectives intéressantes pour de nouvelles méthodes de lutte.

Mots clés : Adaptation, bactérie phytopathogène, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, Methyl-accepting chemotaxis protein, mobilité flagellaire, non-hôte.

CYP707A1, un gène de catabolisme de l'ABA, est un composant ubiquitaire de la germination des graines des plantes parasites en réponse à des stimulants de germination

Lechat MM¹., Pouvreau JB¹., Péron T¹., Gauthier M¹., Montiel G¹., Véronési C¹., Todoroki Y²., Le Bizec B³., Monteau F³., Macherel D⁴., Simier P¹., Thoiron S¹., Delavault P¹.

marc-marie.lechat@univ-nantes.fr

¹ Laboratoire de Biologie et Pathologie Végétales, EA 1157 - SFR 4207 QUASAV, Université de Nantes, France

² Department of Applied Biological Chemistry, Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Shizuoka, Japan

³ LABERCA, Oniris, Université LUNAM, Nantes, France

⁴ Institut de Recherche en Horticulture et Semences, UMR 1345 INRA, Agrocampus Ouest, Université d'Angers, SFR 4207 QUASAV, Angers, France

La germination des graines des plantes parasites de racines est déclenchée, après une période de conditionnement, par des stimuli chimiques (essentiellement des strigolactones) sécrétés dans la rhizosphère par les racines de la plante hôte. En utilisant *Phelipanche ramosa* comme modèle, nous avons démontré que les graines nécessitent une période de conditionnement d'au moins quatre jours avant de pouvoir germer en réponse à un stimulant artificiel, le GR24. Par une approche transcriptomique sans *a priori* (cDNA-AFLP), 58 fragments dérivés de transcrits (TDF), présentant une expression différentielle suite à un traitement au GR24, ont été isolés. Parmi ces TDFs, deux transcrits surexprimés correspondent à un gène, *PrCYP707A1*, codant pour une ABA 8-hydroxylase, enzyme de catabolisme de l'acide abscissique (ABA). Alors que ce gène présente un niveau d'expression relativement bas durant la période de conditionnement, une première baisse de la teneur en ABA est observée, celle-ci étant essentiellement attribuée à une diffusion hors de la graine. Après le conditionnement, l'application de GR24 provoque une forte surexpression de *PrCYP707A1* durant 18 heures, suivie d'une seconde chute de la teneur en ABA, détectable après 3 jours de traitement. Or, un traitement par un inhibiteur spécifique des CYP707A, l'Abz-E2B, conjointement au traitement GR24, entraîne une inhibition de la germination des graines. Ces différents résultats montrent que la germination s'effectue après une levée de dormance des graines de *P. ramosa* via le catabolisme de l'ABA médiée par une activation stimulant dépendante du gène *PrCYP707A1*. En outre, des expériences d'hybridation *in situ*, sur des graines de *P. ramosa* ont par ailleurs montré que le GR24 induit une accumulation d'ARNm *PrCYP707A1* au niveau des cellules du périsperme situées sous le micropyle. Ces résultats, ainsi que ceux d'une autre étude, suggèrent que les récepteurs aux stimulants de germination seraient localisés dans ces cellules du périsperme des graines. Nous avons ensuite évalué si la surexpression de *CYP707A* constituait un mécanisme ubiquitaire dans la germination des graines des plantes parasites induites par les stimulants de germination. Dans un premier temps, les réponses de différentes plantes parasites, *P. ramosa*, *O. cumana*, *O. minor* et *S. hermonthica* à différents stimulants de germination – un strigolactone de synthèse, le GR24, un sesquiterpène issu du tournesol, le dehydrocostus lactone (DCL), et le 2-phenylethylisothiocyanate (ITC) présent dans la rhizosphère du colza, ont été analysées. Les graines ont montrées des schémas de réponses différentielles selon les espèces, les stimulants et les concentrations appliquées. Ainsi, les quatre espèces germent en réponse au GR24, deux en réponses au DCL, et seule *P. ramosa* germe en réponse aux ITC. Quels que soient le stimulant de germination et l'espèce, lorsque la germination est déclenchée, une surexpression du gène *CYP707A* est observée. Ces résultats révèlent le rôle ubiquitaire de *CYP707A* dans la germination des graines des plantes parasites déclenchées par les stimulants de germination.

Mots clés : *CYP707A*, ABA, plante parasite, *Phelipanche ramosa*, germination, strigolactone

Référence :

Lechat MM, Pouvreau JB, Peron T, Gauthier M, Montiel G, Veronesi C, Todoroki Y, Le Bizec B, Monteau F, Macherel D. et al. (2012) *PrCYP707A1*, an ABA catabolic gene, is a key component of *Phelipanche ramosa* seed germination in response to the strigolactone analogue GR24. J Exp Bot. 9:5311–5322.

Bases génétiques de la croissance hétérotrophe chez *Medicago truncatula* ; impact de stress abiotiques

Chvan Youssef, Catherine Aubry², Daniel Beucher¹, Béatrice Teulat¹.

chvan.youssef@agrocampus-ouest.fr

¹AGROCAMPUS OUEST, UMR 1345 IRHS équipe BGL, SFR 149 QUASAV, PRES UNAM, 16 Boulevard Lavoisier 49045 Angers. ²Université d'Angers, UMR 1345 IRHS équipe BGL, SFR QUASAV, PRES UNAM, 2 Boulevard Lavoisier 49045 Angers

La croissance hétérotrophe des organes permet la sortie de la plantule hors de terre. C'est une étape clé, bien que peu étudiée, pour la réussite de l'implantation. La légumineuse modèle *Medicago truncatula* (*Mtr*) a été utilisée pour étudier le déterminisme génétique de la croissance de l'hypocotyle à l'obscurité. Le nombre et la taille des cellules sont deux déterminants essentiels de la taille d'un organe. D'après les analyses de Pierre (2012), l'allongement de l'hypocotyle chez *Mtr* est contrôlé par l'allongement cellulaire sans aucune division. Dans cette étude, nous avons déterminé le nombre de cellules épidermiques de l'hypocotyle dans l'embryon de la graine mature (NCE) pour un panel de 17 génotypes représentatifs de la diversité génétique de l'espèce, à partir de semences provenant d'un même lot (produit dans les mêmes conditions). Le NCE a également été déterminé pour 5 lots de semences différents pour trois de ces génotypes. Le comptage direct du nombre de cellules sur des coupes longitudinales de l'axe embryonnaire a été réalisé en collaboration avec le plateau IMAC de la SFR Quasav. Il a permis de mettre en évidence une large variabilité génétique du NCE. Par ailleurs, le nombre de cellules est le même pour les lots étudiés. Ces résultats suggèrent que le déterminisme du NCE pour *Mtr* serait exclusivement dépendant du génotype sans contribution significative des conditions de la culture des plantes à l'origine des semences. La croissance post-germinative de l'hypocotyle à différentes températures et en condition de stress hydrique a été analysée en parallèle. Le NCE est corrélé positivement avec la longueur maximale de l'hypocotyle à l'obscurité. Cette corrélation est toutefois plus forte en conditions optimales qu'en conditions de stress abiotique. La contribution du NCE et de l'allongement de ces cellules est donc différente selon les conditions environnementales, l'allongement des cellules contribuant de manière plus importante que le NCE aux variations génotypiques de la longueur de l'hypocotyle en conditions de stress. En parallèle, des QTL (Quantitative Trait Loci) contrôlant le NCE ont été identifiés à partir d'une population de 101 lignées recombinantes issue du croisement entre Jemalong A17 et F83005.16. L'analyse des co-localisations de QTL a permis de mettre en évidence les régions du génome contrôlant la variation de la longueur de l'hypocotyle au froid (Dias *et al.*, 2011) associées au nombre initial de cellules dans l'embryon et celles associées à l'allongement des cellules au cours de la croissance hétérotrophe. Grâce à la carte physique du génome de *Mtr*, il est possible d'accéder à des gènes sous-jacents aux QTL impliqués dans l'allongement des cellules. Cette liste de gènes sera rapprochée de résultats d'une analyse du protéome menée avec deux génotypes ayant le même NCE mais de longueur de cellules contrastée. Ces deux approches devraient permettre d'identifier des protéines clés impliquées dans le contrôle de l'allongement des cellules associé aux variations génotypiques de la taille de l'hypocotyle en réponse aux stress abiotiques.

Mots clés : Nombre de cellules épidermiques, hypocotyle, variabilité génétique, stress abiotique, QTL.

Références :

Dias, P.M.B., Brunel-Muguet, S., Durr, C., Huguet, T., Demilly, D., Wagner, M.-H., and Teulat-Merah, B. (2011) QTL analysis of seed germination and pre-emergence growth at extreme temperatures in *Medicago truncatula*. *Theor Appl Genet* 122, 429–444

Pierre, J. (2012) Combinaison d'approches transcriptomique et écophysiological pour l'analyse de la croissance hétérotrophe de *Medicago truncatula* à basse température. Thèse Agrocampus-Ouest d'Angers.

Caractérisation du transporteur de nitrate MtNRT1.3 de *Medicago truncatula* : rôles dans la perception du signal nitrate

Anthoni Pellizzaro, Thibault Clochard, Caroline Cukier, Marjorie Juchaux, Françoise Montrichard, Elisabeth Planchet, Anis M. Limami et Marie-Christine Morère-Le Paven.

anthoni.pellizzaro@etud.univ-angers.fr

Université d'Angers, UMR 1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences, SFR 4207 Quasav, 2 Boulevard Lavoisier, 49045 Angers cedex 01, France.

Le nitrate, source majeur d'azote pour la plupart des plantes, n'est pas seulement un élément nutritif mais est aussi une molécule signal. Il existe cependant des réponses contrastées au nitrate entre les différentes plantes supérieures. Chez *Medicago truncatula*, espèce modèle de la famille des légumineuses, le nitrate a un effet inhibiteur sur la croissance de la racine primaire en phase post-germinative. Une étude de génétique quantitative a montré qu'un transporteur de nitrate se situe au pic d'un QTL impliqué dans la croissance de la racine primaire (Morère-Le Paven *et al.*, 2011). La caractérisation fonctionnelle de ce transporteur, nommé MtNRT1.3, a montré que celui-ci est à double affinité pour le nitrate (Morère-Le Paven *et al.*, 2011). Dans la mesure où MtNRT1.3 est localisé au niveau de la membrane plasmique, ce transporteur est alors susceptible de participer à l'influx de nitrate dans la plante. Après l'obtention de trois géotypes mutants RNAi stables, les expérimentations utilisant du $K^{15}NO_3$ ont montré que ce transporteur participe effectivement à l'influx de nitrate lié au système de transport à faible affinité inductible dans la plante (iLATS). En revanche, la mutation de *MtNRT1.3* ne semble pas avoir de conséquence sur le métabolisme azoté. Par ailleurs, les études sur la croissance de la racine primaire ont permis de confirmer l'implication du transporteur sur ce caractère phénotypique et son implication dans la réponse au signal nitrate. Cette différence de croissance de la racine primaire observée sur nitrate entre le géotype sauvage et les géotypes mutants est alors imputée, à l'échelle cellulaire, à une modulation de l'élongation cellulaire et de la structure de la paroi cellulaire. En revanche, cette différence n'est pas dépendante d'une variation de l'activité mitotique dans le méristème racinaire. L'architecture des racines des légumineuses implique non seulement l'élaboration du système racinaire mais également la formation de nodules symbiotiques en association avec rhizobium permettant ainsi la fixation d'azote atmosphérique. MtNRT1.3 joue aussi un rôle dans le développement des nodules en réponse au nitrate. L'ensemble de ces résultats indique donc que MtNRT1.3 est un senseur de nitrate pour la plante en phase post-germinative.

Mots clés : NO_3^- , transporteur, croissance de la racine primaire, senseur de nitrate.

Références : Morère-Le Paven *et al.*, (2011) *J. Ex. Bot.* 62: 5595-5605

Mécanismes de toxicité d'insecticides néonicotinoïdes chez le puceron du pois

TAILLEBOIS Emiliane

emiliane.taillebois@etud.univ-angers.fr

Laboratoire RCIM (Récepteurs et Canaux Ioniques Membranaires), UFR Sciences Angers

Les pucerons sont responsables de centaines de millions d'euros de pertes annuelles dans les cultures au niveau mondial [1]. Différents insecticides, dont les néonicotinoïdes sont utilisés afin de contrôler ces ravageurs. Cependant, les récentes polémiques autour de l'utilisation des néonicotinoïdes montrent qu'une meilleure connaissance du mode d'action de ces molécules est cruciale afin de mettre en place des stratégies de lutte raisonnée. L'objectif de notre étude est de comprendre les mécanismes de toxicité de trois insecticides néonicotinoïdes couramment utilisés, l'imidaclopride (Gaucho®), le thiaméthoxame (Cruiser®) et la clothianidine (Poncho®) chez le puceron du pois.

Les tests d'intoxication orale démontrent que le thiaméthoxame et l'imidaclopride sont plus toxiques que la clothianidine. Ces insecticides agissent en se fixant sur les récepteurs nicotiniens (nAChRs) qui sont des protéines transmembranaires composées de 5 sous-unités. L'analyse de la liaison des néonicotinoïdes sur leurs cibles indique que le thiaméthoxame présente une plus forte affinité que l'imidaclopride pour la population de nAChRs bloquée par une toxine spécifique, l' α -Bungarotoxine (α -Bgt). Au contraire, la clothianidine présente une affinité similaire pour cette population de nAChRs et celle sensible à l'imidaclopride. Les analyses par HPLC/MS montrent que la plus forte toxicité du thiaméthoxame serait liée à la fois à son action directe et à sa métabolisation partielle en clothianidine.

Concernant la structure des nAChRs, onze sous-unités ont été identifiées chez le puceron du pois [2]. L'analyse quantitative montre que les sous-unités Apisum α 3, Apisum α 7 et Apisum β 2 sont majoritairement exprimées chez l'adulte. Le niveau d'expression des sous-unités diffère en fonction du stade de développement et après exposition aux insecticides. On observe ainsi une augmentation de l'expression de Apisum α 10 et Apisum β 1 tandis que celle de Apisum β 2 diminue après exposition à l'imidaclopride, au thiaméthoxame ou à la clothianidine.

En conclusion, nos résultats montrent que la sensibilité aux néonicotinoïdes pourrait dépendre à la fois de la nature de l'insecticide et du profil d'expression des sous-unités de nAChRs chez le puceron du pois. Notre objectif est maintenant de déterminer le rôle des différentes sous-unités dans la capacité de liaison des insecticides néonicotinoïdes.

Mots clés : néonicotinoïde, puceron du pois, récepteur nicotinique, sous-unité.

Références :

1. Dedryver CA, Le Ralec A, Fabre F (2010) The conflicting relationships between aphids and men: A review of aphid damage and control strategies. *Compte Rendus Biologies* 333.539-553
2. Dale RP, Jones AK, Tamborindéguy C, Davies TG, Amey JS, et al. (2010) Identification of ion channel in the *Acyrtosiphon pisum* genome. *Insect Mol Biol* 19 Suppl 2. 141-153

Rôle d'un récepteur à double affinité Ecdysone-Dopamine (DopEcR) dans la plasticité de l'olfaction chez le papillon de nuit, *Agrotis ipsilon*

ABRIEUX Antoine

antoine.abrieux@etud.univ-angers.fr

RCIM UPRES-EA 2647, USC INRA 1330 UFR Sciences Université d'Angers 2, Boulevard Lavoisier 49045 Angers cedex 01 France

Chez les mammifères et les insectes, les hormones stéroïdiennes et les amines biogènes jouent un rôle dans les relations sociales et sexuelles en agissant sur les processus olfactifs et sont ainsi considérés comme des facteurs clés de la plasticité sensorielle. Chez les papillons nocturnes, différentes formes de plasticité olfactive ont été décrites en rapport avec le cycle nyctéméral, l'âge, et l'état physiologique des mâles lors de leur comportement sexuel. Par exemple, chez le papillon *Agrotis ipsilon*, les mâles ne deviennent sexuellement matures et capables de répondre à la phéromone sexuelle qu'après quelques jours de vie adulte. Des expériences préliminaires ont montré que l'injection de l'hormone stéroïdienne, la 20-hydroxyecdysone (20E), chez des mâles immatures, augmente la réponse comportementale à la phéromone sexuelle. Afin de mieux comprendre les effets de la 20E sur le système olfactif d'*A.ipsilon*, nous avons procédé à la caractérisation moléculaire et fonctionnelle d'un récepteur membranaire de type RCPG présentant une double affinité pour la 20E et la dopamine. Les résultats obtenus montrent que chez le mâle *A.ipsilon*, le gène *AipsDopEcR* est principalement exprimé au niveau du cerveau et notamment dans le lobe antennaire, siège de l'intégration primaire du signal olfactif. L'expression cérébrale de la protéine *AispDopEcR* augmente avec l'âge en étroite corrélation avec la mise en place du comportement sexuel du mâle. L'établissement d'une cartographie de l'expression cérébrale de la protéine *AipsDopEcR* révèle une localisation dans les glomérules du lobe antennaire, de même qu'à l'intérieur des calyces des corps pédonculés, centres de régulation de la mémorisation et de l'apprentissage olfactif. Finalement, l'approche fonctionnelle démontre que l'injection de dsRNA dirigés contre *AipsDopEcR* induit une diminution de la réponse comportementale du mâle à l'égard de la phéromone sexuelle. L'ensemble de ces données démontrent que le récepteur *AipsDopEcR* est impliqué dans l'expression du comportement sexuel et probablement en tant qu'acteur de voie de signalisation de la 20E et/ou de la dopamine contrôlant le codage central de l'information phéromonale.

Mots clés : plasticité, olfaction, comportement sexuel, stéroïdes, récepteur membranaire (*AipsDopEcR*), noctuelle

References: Abrieux A., Debernard S., Maria A., Gaertner C., Anton S., Gadenne C. and Duportets L.(2013) Involvement of the G-protein-coupled dopamine/ecdyteroid receptor *DopEcR* in the behavioral response to sex pheromone in an insect. *PLoS ONE*, 8(9), e72785.

Merci à tous les participants :

Khaled AL SABIL	Khaledsabil88@yahoo.com
Séverine BOISARD	severine.boisard@etud.univ-angers.fr
Sandrine MIKOL	sandrine.mikol@angers.inra.fr
Marie DE GRACIA	Marie.de-gracia@angers.inra.fr
Diane LEFORESTIER	diane.leforestier@angers.inra.fr
Arnaud INDIANA	arnaud.indiana@gmail.com
Marc-Marie LECHAT	marc-marie.lechat@univ-nantes.fr
Chvan YOUSSEF	chvan.youssef@agrocampus-ouest.fr
Anthoni PELLIZZARO	anthoni.pellizzaro@etud.univ-angers.fr
Emiliane TAILLEBOIS	emiliane.taillebois@etud.univ-angers.fr
Antoine ABRIEUX	antoine.abrieux@etud.univ-angers.fr

Merci aux membres du jury :

Didier PELTIER	(IRHS-Pôle fruit et légumes)
Béatrice TEULAT-MERAH	(IRHS-Pôle semences)
Lydie THELIER	(IRHS-Pôle ornement)
Philippe SIMIER	(LBPV)
Pascal RICHOMME (matin)	(SONAS)
Denis SERAPHIN (après-midi)	(SONAS)
Sylvia ANTON	(RCIM)
Marie-Paule RAVENEAU	(LEVA)

Merci aux organisateurs :

Anthoni PELLIZZARO
Emiliane TAILLEBOIS
Mathilde GOULU