



HAL
open science

Résistance génétique et stimulation des défenses de la plante pour contrôler l'oïdium de la tomate

Awa Sangare

► **To cite this version:**

Awa Sangare. Résistance génétique et stimulation des défenses de la plante pour contrôler l'oïdium de la tomate. Agronomie. 2023. dumas-04554411

HAL Id: dumas-04554411

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04554411v1>

Submitted on 3 May 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Mémoire de fin d'études

Présenté pour l'obtention du diplôme d'ingénieur en Agronomie

Spécialité / Mention : Agronomie

Option : Amélioration des Plantes et Ingénierie végétale

Méditerranéennes et Tropicales

RÉSISTANCE GÉNÉTIQUE ET STIMULATION DES DÉFENSES DE LA PLANTE POUR CONTRÔLER L'OÏDIUM DE LA TOMATE



par Awa SANGARE

Année de soutenance : 2023

Mémoire de fin d'études

Présenté pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur en Agronomie

Spécialité / Mention : Agronomie

Option : Amélioration des Plantes et Ingénierie végétale

Méditerranéennes et Tropicales

RÉSISTANCE GÉNÉTIQUE ET STIMULATION DES DÉFENSES DE LA PLANTE POUR CONTRÔLER L'OÏDIUM DE LA TOMATE



par Awa SANGARE

Année de soutenance : 2023

Mémoire préparé sous la direction
de : Mme Claire NEEMA

Présenté le : 21/09/2023

Devant le jury :

M. Pierre BERTHOMIEU- Président

Mme Elsa BALLINI - Rapporteur

M. Pierre CZERNICK - Rapporteur

Organisme d'accueil : INRAE

Unité Pathologie végétale et Unité GAFL

Maîtres de stage :

M. Marc BARDIN

M. Bernard CAROMEL

Résumé

La tomate est le légume le plus consommé au monde. Elle est sensible à plusieurs maladies telles que l'oïdium et le mildiou. L'oïdium de la tomate est une maladie foliaire principalement causée par le champignon *Oïdium neolycopersici*. L'objectif de ce travail est d'étudier la combinaison de deux leviers immunitaires (résistance génétique et stimulation des défenses de la plante) chez la tomate pour le contrôle de l'oïdium. Cette étude a porté sur trois axes : (1) la cartographie des régions génomiques de la tomate impliquées dans la résistance génétique de l'accession G21, (2) l'évaluation de la part de la génétique de la plante dans l'efficacité de produits de biocontrôle et (3) l'étude du mode d'action de ces produits de biocontrôle, par des approches biologiques, transcriptomiques et métabolomiques. Concernant la résistance génétique, un QTL (quantitative trait locus) de résistance à l'oïdium a été détecté sur le chromosome 9 de la tomate. Les analyses phénotypiques ont montré que les produits P4 et P7 ont des efficacités protectrices vis-à-vis de l'oïdium de 18% et 68%, respectivement et que la variation de l'efficacité de ces deux produits est en partie due à l'effet génétique (pour P4 : $H^2 = 64\%$ et pour P7 : $H^2 = 66\%$). Les analyses métabolomiques ont montré que les deux produits ont un effet sur la synthèse de métabolites secondaires dans les feuilles de la plante. En conclusion, le produit P7 est plus efficace contre *O. neolycopersici*, avec une héritabilité de 66% et induit la synthèse de métabolites secondaires par la plante. Dans la suite des travaux une approche transcriptomique sera utilisée pour identifier les gènes de défense qui sont induits par ces produits et de faire la cartographie génétique des régions génomiques impliquées dans la réponse des plantes à l'application des produits de biocontrôle.

Mots clés : Oïdium de la tomate, *Oïdium neolycopersici*, QTL, stimulateurs de défense des plantes, métabolites secondaires.

Pour citer ce document : SANGARE, Awa. 2023. Résistance génétique et stimulation des défenses de la plante pour contrôler l'oïdium de la tomate, Mémoire d'Ingénieur Agronome, option Amélioration des plantes et ingénierie végétale Méditerranéennes et Tropicales (APIMET), Institut Agro Montpellier. 69p.

Institut Agro | Montpellier SupAgro, 2 place Pierre Viala, 34060 Montpellier cedex 02. <https://www.institut-agro-montpellier.fr/>.

Abstract

Title: Genetic resistance and plant defense stimulation for tomato powdery mildew control

Tomato is the most widely consumed vegetable in the world. It is susceptible to several diseases such as powdery mildew and late blight. Tomato powdery mildew is a foliar disease caused mainly by the fungus *Oidium neolycopersici*. The aim of this work is to investigate the combination of two immune strategies (genetic resistance and plants defenses stimulation) to control tomato powdery mildew. This study focused on three points: (1) mapping the tomato genomic regions involved in the genetic resistance (QTL) of the G21 accession; (2) assessing the role of plant genetics in the efficacy of biocontrol products, and (3) studying the mode of action of these biocontrol products, using biological, transcriptomic and metabolomic approaches. Regarding genetic resistance, one QTL for powdery mildew resistance was detected on chromosome 9. Phenotypic analyses showed that the biocontrol products P4 and P7 had protective efficacy against powdery mildew of 18% and 68% respectively, and that the efficacy variation of both products was partly due to genetic effect (for P4: $H^2 = 64\%$ and for P7: $H^2 = 66\%$). Metabolomics analyses showed both products influenced the synthesis of secondary metabolites in the plant's leaves. In conclusion, P7 was more effective against *O. neolycopersici*, with a heritability of 66%, and induced the synthesis of secondary metabolites in the leaves. For future research, we will employ a transcriptomic approach to identify defense genes induced by these biocontrol products and we will map the QTL involved in the plant's response to P7 application.

Key words: Tomato powdery mildew, *Oidium neolycopersici*, QTL, plant defense stimulator, secondary metabolites.

Remerciements

Mes remerciements vont d'abord à mes encadrants Dr Marc BARDIN et Dr Bernard CAROMEL pour leurs aides tout au long de ce stage, pour la confiance qu'ils ont eue en moi en m'acceptant en tant que stagiaire et aussi pour l'opportunité qu'ils m'offrent pour poursuivre en thèse les recherches déjà entamées.

Je voudrais aussi remercier Dr Phillippe NICOT, M. Jean-François BOURGEAY et Mme Magali DUFFAUD, M. Florent MAGOT pour toutes les aides qu'ils m'ont apportées tout au long de ce stage. J'ai apprécié travailler avec vous. Travailler avec vous signifie travailler sans s'ennuyer tout en apprenant, j'ai beaucoup appris auprès de vous.

Je remercie également INRAE pour tout ce qu'il fait pour ses stagiaires (subvention restaurant, formation) sans aucune distinction entre travailleurs ou même prendre en compte le type de contrat et tous les membres des deux unités PV et GAFL pour leurs accueils chaleureux.

Je remercie la plateforme d'Analyse Structurale et Métabolomique (PASM) pour avoir permis l'acquisition des données de métabolomique et la plateforme de séquençage EPGV pour le séquençage des ADN.

Je remercie Mme Claire NEEMA pour avoir accepté d'être ma tutrice pédagogique, pour son écoute et pour la relecture de mon mémoire. Merci pour toutes les fois où vous avez essayé de me remonter le moral lorsque je vous expliquais que mes essais étaient en retard et que je craignais de ne pas pouvoir avoir à temps les résultats pour la rédaction de mon mémoire.

Je remercie M. Pierre BERTHOMIEU, Mme Elsa BALLINI et M. Pierre CZERNICK qui ont accepté d'être les membres de mon jury de soutenance. Je vous souhaite une bonne lecture de mon mémoire.

Merci à M. Pierre BERTHOMIEU, M. Jacques DAVID, Mme Dominique THIS et Mme Isabel MARTIN-GRANDE, responsables et ingénieur pédagogique de la formation APIMET-SEPMET pour tous les conseils, le travail qu'ils fournissent pour faire de cette formation une formation de qualité et leurs dévouements pour la réussite de leurs étudiants. J'ai apprécié ces moments passés près de vous depuis la 2ème année. Je vous souhaite d'avoir beaucoup de forces pour continuer dans ce que vous faites et rendre pleins d'étudiants heureux comme moi je suis heureuse aujourd'hui d'avoir suivi cette formation.

Je remercie tous mes camarades de classe pour leurs soutiens, leurs présences et surtout pour l'atmosphère joyeuse, la bienveillance et l'entraide qui régnaient dans la promotion. Je vous souhaite à tous une bonne continuation et beaucoup de belles opportunités pour la suite.

Je ne pourrais terminer sans dire merci à tous les enseignants et les membres des administrations de l'Institut Agro Montpellier, l'Ecole Supérieure Agronomie (ESA) de l'INPHB (Yamoussoukro-Côte d'Ivoire) et l'INPHB pour la qualité des formations que j'ai reçues et leurs engagements envers les étudiants.

Je remercie toutes ces personnes qui de près ou de loin ont cru en moi et qui m'ont soutenu durant tout mon cursus scolaire.

Table des matières

Résumé.....	4
Abstract	5
Remerciements	6
Table des matières	8
Avant-Propos.....	10
Glossaire.....	11
Sigles et acronymes.....	12
Liste des illustrations.....	13
Introduction	14
1 Revue de littérature	15
1.1 La tomate	15
1.2 Oïdium de la tomate.....	16
1.2.1 Agent pathogène et sa biologie.....	16
1.2.2 Symptômes, Cycle d'infection et conditions de développement.....	16
1.2.3 Protection contre l'oïdium	19
1.3 Mécanisme de défense de la plante.....	19
1.3.1 Les types de résistances	20
1.3.1.1 Résistance spécifique.....	20
1.3.1.2 Résistance quantitative	20
1.4 Cartographie génétique des QTL.....	21
1.4.1 QTL mapping	21
1.4.2 QTL-seq.....	22
1.5 Gènes de résistance à l'oïdium	24
1.6 Renforcer l'immunité de la plante grâce aux stimulateurs des défenses de la plante (SDP)	26

2	Matériel et méthodes.....	28
2.1	Matériel fongique.....	28
2.2	Cartographie des QTL de résistance à <i>Oïdium neolycopersici</i>	28
2.3	Réponse de la tomate à l'application de produits de biocontrôle pour lutter contre <i>Oïdium neolycopersici</i>	30
2.3.1	Effet génétique de l'efficacité de la protection des produits de biocontrôle.....	30
2.3.2	Mode d'action des produits de biocontrôle : approche par métabolomique.....	30
2.4	Analyses statistiques des données.....	31
3	Résultats.....	33
3.1	Les QTL de résistance à l'Oïdium.....	33
3.1.1	Distribution des F2	33
3.1.2	Cartographie génétique des locus	33
3.1	Mécanismes d'action des produits de biocontrôle	37
3.1.1	Effet génétique de l'efficacité de la protection des produits.....	37
3.1.1.1	Interaction génotypes x produits.....	37
3.1.1.2	Héritabilité de l'effet génétique H ² : Graphe des héritabilités.....	37
3.1.2	Métabolites secondaires produits par la plante après application des produits de biocontrôle	40
3.1.2.1	Efficacité de la protection.....	40
3.1.2.2	Analyse métabolomique	40
4	Discussion	48
	Conclusion.....	50
	Références bibliographiques	52
	Contribution au travail	57
	Annexes.....	58
	Résumé.....	69

Avant-Propos

Ce stage a été effectué en vue de l'obtention d'un double diplôme d'ingénieur : le diplôme Ingénieur Agronome option Amélioration des Plantes et Ingénierie végétale Méditerranéennes et Tropicales de l'Institut Agro Montpellier, en France et le diplôme d'Ingénieur de conception option Défense des cultures de l'Ecole Supérieure d'Agronomie (ESA) de la Côte d'Ivoire.

L'institut Agro Montpellier anciennement appelé « Montpellier SupAgro » est un établissement ouvert sur la méditerranée et les pays du sud, formant des cadres dans les domaines de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement. Il offre une large gamme de formations telles que des diplômes d'ingénieur, des licences professionnelles, des masters et des doctorats.

L'ESA fait partir des neuf écoles que compte l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (INP-HB), situé à Yamoussoukro dans la capitale politique de la Côte d'Ivoire. L'ESA a en son sein trois cycles de formations : le cycle des Techniciens Supérieurs en Agronomie, le cycle des Ingénieurs des Techniques Agricoles et le cycle des Ingénieurs de Conception en Sciences Agronomiques. En partenariat avec l'Institut Agro Montpellier, chaque année des étudiants en deuxième années du cycle ingénieur de conception de l'ESA passent le concours pour étudiants étrangers (concours DE) de l'institut Agro Montpellier pour une formation en bi-diplomation à partir de la deuxième année.

Ce stage a été réalisé au sein de l'unité Pathologie végétale de INRAe d'Avignon. Il a été financé dans le cadre du projet Cap Zéro Phyto, ayant pour objectif de proposer de nouvelles stratégies de protection des cultures basées sur l'utilisation combinée de leviers immunitaires destinés à moduler les mécanismes de défense des cultures. Les résultats présentés dans ce document sont le fruit des analyses préliminaires faites pour répondre à des interrogations du work package 2 de ce projet.

Glossaire

- Delta-SNP : Différence entre le SNP-index du bulk résistant et le SNP-index du bulk sensibles
- Métabolites secondaires : Les métabolites secondaires sont des composés issus du métabolisme secondaire, ils jouent notamment un rôle important dans le système de défense de la plante.
- Réaction hypersensible : C'est une réaction de défense de la plante qui est enclenchée lorsque la plante est attaquée par un agent pathogène et que l'agent pathogène est reconnu par les protéines de défenses de la plante. Cette réaction est marquée par la mort de la cellule infectée et parfois des cellules adjacentes
- Résistance systémique acquise : Résistance établie lors de l'attaque d'un agent pathogène, et qui est propagée à l'ensemble de la plante. Elle est généralement activée par les pathogènes nécrotiques. Elle est déclenchée par l'accumulation de l'acide salicylique.
- Résistance systémique induite : Résistance établie lors de l'attaque d'un agent pathogène et qui est propagée à l'ensemble de la plante. Elle est généralement activée par les pathogènes biotrophes et les micro-organismes bénéfiques. Elle est déclenchée par l'accumulation de l'acide jasmonique et l'éthylène.
- Single Nucleotide Polymorphism (SNP) : Marqueur moléculaire dont le polymorphisme est lié à la variation d'un seul nucléotide.
- SNP-index : Nombre de reads de séquences ayant le nucléotide alternatif du génome de référence à un locus donné.
- Stimulateur de défense des plantes (SDP) : On appelle stimulateur de défense, tout produit ou organisme qui lorsqu'il est en contact avec la plante, entraîne une réaction de défense de la plante et active l'expression de certains gènes de défense.
- QTL (quantitative trait locus) : Un QTL est une région génomique impliquée dans la variation d'un caractère quantitatif d'intérêt tel que le rendement, la hauteur, le poids, la qualité des fruits, la résistance, etc.

Sigles et acronymes

Acc	:	Accession
ACP	:	Analyse en Composantes Principales
BR	:	Bulk Résistant
BS	:	Bulk Sensible
CIM	:	Composite Interval Mapping
EPGV	:	Etude des Polymorphismes des Génomes Végétaux
ESA	:	Ecole Supérieure d'Agronomie
ET	:	Ethylène
ETI	:	Effector Triggered Immunity
GAFL	:	Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes
GIR	:	Groupe des Individus Résistants
GIS	:	Groupe des Individus Sensibles
hpi	:	Heure après inoculation
HR	:	Réponse hypersensible
Inoc	:	Inoculation
INP-HB	:	Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny
INRAe	:	Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'alimentation et l'environnement
JA	:	Acide jasmonique
LAE	:	Laboratoire Agriculture et Environnement
mQTL	:	Metabolomic Quantitative Trait Locus
PAMP	:	Pathogen Associated Molecular Pattern
PASM	:	Plateforme d'Analyse Structurale et Métabolomique
PR	:	Protéine de résistance
PTI	:	PAMP-triggered immunity
PV	:	Pathologie Végétale
QR	:	Résistance quantitative
QTL	:	Quantitative trait locus
QTL-seq	:	Quantitative trait locus sequencing
ROS	:	Reactive oxygen species (Espèces réactives de l'oxygène)
RSA	:	Résistance Systémique Acquise
RSI	:	Résistance Systémique Induite
SA	:	Acide salicylique
SDP	:	Stimulateurs de Défense des Plantes
SIM	:	Simple Interval mapping
SM	:	Simple Mapping
SNP	:	Single Nucleotide polymorphism

Liste des illustrations

Liste des figures

Figure 1 : Symptômes de l'oïdium de la tomate.	17
Figure 2 : Cycle de développement et d'infection d'Oïdium neolycopersici fait à partir des informations recueillies de Lebeda et al. 2014	18
Figure 3 : Figure du principe de la méthode QTL-seq appliquée par Takagi et al. (2013) sur le riz	23
Figure 4 : Phénotype des parents (P1=RdB et P2=G21), des F1 et des 443 plantes de la descendance F2 (RdB x G21) à O. neolycopersici.....	34
Figure 5 : Résultats de l'analyse QTL-seq utilisant la méthode de Takagi et al. (2013) pour déterminer le seuil de tolérance des faux positifs.....	35
Figure 6 : Résultats de l'analyse QTL-seq utilisant le test G' pour déterminer le seuil de tolérance des faux positifs.....	36
Figure 7 : Variation de l'efficacité protectrice des produits de biocontrôle en fonction des accessions de tomate.	38
Figure 8 : Reproductibilité (effet génétique) des effets protecteurs des produits de biocontrôle.	39
Figure 9 : Sensibilité de différentes accessions de tomate à l'oïdium après différents traitements foliaires des plantes.	41
Figure 10 :Analyse des résultats des données de la métabolomique faisant la différence entre les produits de biocontrôle, les jours et entre les produits x jour.	43
Figure 11 : Différence entre les échantillons inoculés et les échantillons non inoculés par produit.	44
Figure 12 : Analyse des résultats de données de la métabolomique faisant la différence entre accessions et entre les interactions accessions x produits.....	45
Figure 13 : Analyse des résultats de données de la métabolomique faisant la différence entre les interactions accessions x produits.....	47

Liste des équations

Équation 1 : Formule de calcul du pourcentage de protection	32
Équation 2 : Modèle mixte linéaire utilisé pour l'estimation des variances	32
Équation 3 : Formule utilisée pour calculer l'effet génétique (héritabilité)	32

Introduction

L'oïdium de la tomate est une des maladies foliaires les plus fréquentes de la tomate cultivée. Elle est causée principalement par l'ascomycète *Oidium neolycopersici*. Pour lutter contre cet agent pathogène plusieurs leviers tels que la lutte chimique, la lutte préventive, la lutte génétique et la lutte biologique avec l'utilisation des produits de biocontrôle peuvent être utilisés (Blancard et al. 2009). Parmi les produits de biocontrôle, nous pouvons citer les stimulateurs de défense des plantes (SDP) qui agissent comme des vaccins pour les plantes (B. Marolleau, et al. 2013). L'utilisation des SDP est aujourd'hui une alternative prometteuse pour la lutte durable contre les bioagresseurs et le respect de l'environnement. Il faut cependant, noter la forte variabilité des effets des SDP en fonction de différents paramètres, tels que : le génotype de la plante, son environnement, les effets épigénétiques (Bruce 2014) et l'agent pathogène lui-même. Pour une agriculture plus durable, il convient de développer de nouvelles stratégies de protection des cultures basées sur l'utilisation combinée de leviers immunitaires pour moduler les mécanismes de défense des plantes. C'est dans cette optique que s'inscrit ce stage qui a pour objectif d'étudier la combinaison de deux leviers immunitaires (la résistance génétique et la stimulation des défenses de la plante), chez la tomate dans le cas de la lutte contre l'oïdium.

Ce stage a été effectué à l'INRAE d'Avignon au sein de l'unité de recherche Pathologie végétale (PV) en collaboration avec l'unité Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes (GAFL). L'unité PV est spécialisée dans l'étude des maladies bactériennes, fongiques et virales des espèces végétales méditerranéennes. Elle étudie d'une part la biologie et l'évolution de ces micro-organismes pathogènes ainsi que leurs interactions avec les plantes hôtes, et d'autre part l'environnement et les pratiques agricoles pour une meilleure compréhension des processus épidémiques afin de proposer des moyens de lutte adaptés. L'unité GAFL qui est centrée sur les espèces méditerranéennes, a pour mission d'étudier i) la diversité des espèces et le processus de domestication, ii) les bases génétiques et moléculaires de la qualité des fruits, iii) la caractérisation fonctionnelle des interactions plantes-pathogènes et la gestion durable des résistances, ainsi que iv) l'intégration de la résistance aux maladies et de la qualité des fruits dans des innovations variétales.

1 Revue de littérature

1.1 La tomate

La tomate cultivée (*Lycopersicon esculentum* Mill.) est le légume le plus consommé au monde avec une production de plus de 180 millions de tonnes en 2022 (FAO 2022). Elle est cultivée partout dans le monde dans des conditions de culture très variées en termes de climat et d'itinéraire technique. Il existe deux types de variétés cultivées : les variétés à croissance déterminée, destinées à l'industrie de transformation et sont produites uniquement en plein champ, et les variétés à croissance indéterminée (croissance sympodiale) destinées au marché du frais, qui peuvent être cultivées dans des conditions très diverses allant du plein champ aux serres où les conditions sont contrôlées (Blancard et al. 2009; Causse et al. 2020).

La tomate est originaire de l'Amérique du Sud et appartient à la famille des Solanacées au même titre que l'aubergine, le piment et la pomme de terre. C'est la plante la plus cultivée de sa famille (Faino et al. 2012). C'est une plante autogame, diploïde ($2n = 24$ chromosomes) avec un génome de taille moyenne (950 Mb) (Kole 2020). Il existe de nombreux mutants monogéniques intéressants pour la sélection (Blancard et al. 2009). L'un des exemples cités par Blancard et al. (2009), est la mutation récessive (self-pruning) à l'origine du caractère "croissance déterminée". La tomate est une espèce modèle pour les études génétiques et génomiques du fait de la petite taille de son génome et du grand nombre de marqueurs moléculaires cartographiés sur ce dernier (Huang 2001; Lin et al. 2014). Elle est facile à croiser, transformer et c'est aussi une plante d'importance économique (Huang 2001; Kole et al. 2020). La tomate est aussi utilisée en génétique pour l'identification et la caractérisation fonctionnelle des gènes de résistance aux maladies (Causse et al. 2020). La variabilité génétique des tomates cultivées est très étroite (Faino et al. 2012). Elle est l'hôte de plus de 200 espèces de parasites et de pestes qui causent de grands dégâts économiques (Bai et Lindhout 2007). Ces parasites et pestes (nématodes, champignons, insectes, virus) peuvent entraîner des pertes économiques importantes allant de 40 à 50% et causer des épidémies désastreuses (Lebeda et al. 2014; Sun et al. 2019; Kole et al. 2020;). Les maladies les plus fréquentes sur la tomate sont le mildiou, la pourriture grise et l'oïdium. La tomate ayant perdu sa diversité génétique au cours de la domestication et de la sélection, il est parfois difficile de trouver des résistances contre les maladies chez les tomates cultivées. Cependant, des résistances contre des maladies et des tolérances aux stress abiotiques ont été identifiées chez les plantes sauvages interfécondes avec les tomates cultivées : *S. cheesmaniae*, *S. chmielewskii*, *S. habrochaites*, *S. lycopersicoides*, *S. pennellii* et *S. pimpinellifolium* (Bai et al. 2003; 2008; 2018; Li et al. 2012; Lebeda et al. 2017), chez qui on trouve une grande diversité génétique (Bai et Lindhout 2007).

1.2 Oïdium de la tomate

1.2.1 Agent pathogène et sa biologie

L'oïdium de la tomate est la maladie foliaire la plus importante sur la tomate sous serre et la tomate en plein champ. Elle est causée par trois champignons : *Leveillula taurica*, *Oidium lycopersici* (spécifiquement en Australie) et *Oidium neolycopersici* dans le reste du monde (Kiss et al. 2001). Ce dernier est la principale cause de l'oïdium de la tomate (Adedayo et al. 2022; Park et al. 2022).

L'espèce *Oidium neolycopersici* a été identifiée la première fois en 1986 (Bai 2004; Lebeda et al. 2017). C'est un champignon ascomycète biotrophe obligatoire (Bardin et al. 2007; Bai et al. 2008; 2018) dont l'hôte principal est la tomate mais qui peut infecter plus de 60 espèces appartenant à 13 familles de plantes différentes (Jones et al. 2001). C'est un ascomycète dont la forme sexuée n'a pas encore été identifiée. A la différence des autres espèces d'oïdium, *O. neolycopersici* est un champignon qui produit des conidies individuelles ou des pseudo-chaines de 2 à 6 conidies (Jones et al. 2001). On trouve chez ce pathogène une très grande diversité génétique intraspécifique bien que, jusqu'à présent, il soit difficile de confirmer l'existence de plusieurs souches (Jankovics et al. 2008; Lebeda et al. 2017).

1.2.2 Symptômes, Cycle d'infection et conditions de développement

O. neolycopersici est un pathogène dit "ectotrophe" ou "superficiel" car il se développe à la surface des feuilles (figure 1). Il provoque des taches blanches et poudreuses (figure 2) sur la face supérieure des feuilles qui finissent par se nécroser. La maladie ne touche pas les fruits. *O. neolycopersici* peut infecter la tomate tout au long de son cycle de développement (du stade plantule jusqu'à la maturité de la plante). Il peut entraîner l'étiollement, la sénescence rapide des feuilles et la réduction de la qualité, ainsi que la taille des fruits (Kim et al. 2018). Cet agent pathogène est à l'origine de plus de 50% des pertes de rendement au champ (Park et al. 2022; Qinggui Lian et al. 2022).

Les contaminations primaires se font via des spores qui germent directement au contact des feuilles (figure 2). Ils pénètrent directement à travers des cuticules et des parois des cellules (Blancard et al. 2009). Ils poursuivent leur développement au niveau des cellules épidermiques du limbe. Les taches poudreuses sporulent abondamment et sont disséminées par l'air et les éclaboussures. Le développement de l'oïdium de la tomate est optimal à des températures chaudes (20-25°C) et à une hygrométrie inférieure ou égale à 80% (Blancard et al. 2009; Fletcher et al. 1988; Jacob et al. 2008; Bardin et al. 2007; Lebeda et al. 2017; Bai et al. 2008). Le champignon assure sa survie après culture en se développant sur des plantes hôtes alternatives comme le tabac (Jankovics et al. 2008), les poivrons, les aubergines et les adventices (e.g. le datura), permettant à la forme mycélienne de survivre entre deux cultures.



Figure 1 : Symptômes de l'oïdium de la tomate.

Photographie prise à l'INRAe d'Avignon montrant l'une des plantes sensibles du sixième essai mis en place sous tunnel pour le calcul des effets génétiques de la protection des produits de biocontrôle. Les taches blanches représentent les symptômes de l'oïdium sur la tomate et chaque point correspond à une colonie. Le phénotypage est généralement fait en comptant le nombre de spots/colonie.

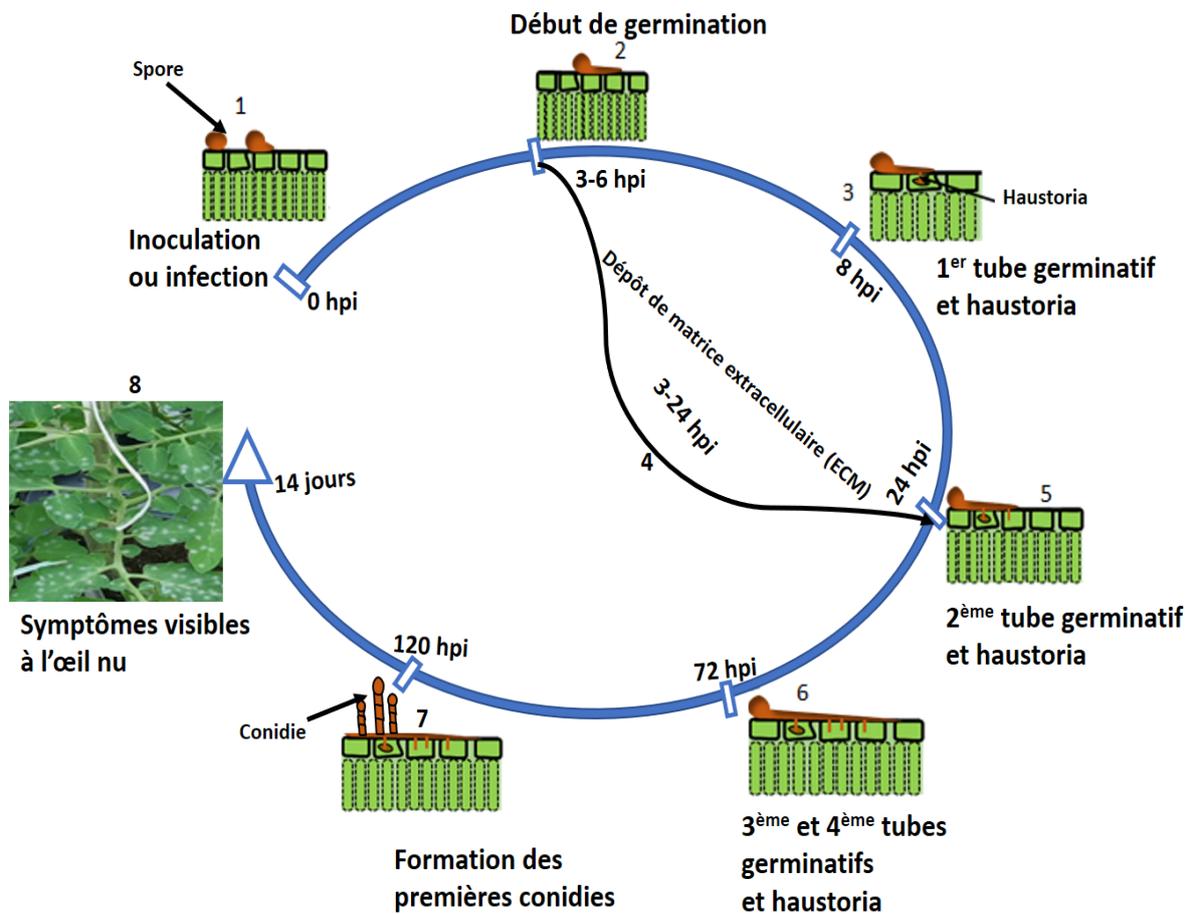


Figure 2 : Cycle de développement et d'infection d'*Oidium neolycopersici* fait à partir des informations recueillies de Lebeda et al. 2014

- 1- Infection de la feuille par des spores de l'*O. neolycopersici* à 0 hpi
- 2- Début de la germination entre 3 et 6 hpi
- 3- Formation d'un tube germinatif primaire court se terminant par un appressorium primaire duquel se forme un haustorium primaire
- 4- Entre 3 et 24 hpi, dépôts de matrice extracellulaire (MEC)
- 5- Formation d'un appressorium secondaire et d'un haustorium secondaire à 24 hpi,
- 6- Formation des troisièmes et quatrièmes tubes germinatifs jusqu'à 72 hpi,
- 7- Formation des premiers conidiophores entre 89 et 120 hpi
- 8- Développement maximal de l'*O. neolycopersici* sur les feuilles, taches visibles au bout de 14 jours.

1.2.3 Protection contre l'oïdium

Plusieurs méthodes de protection sont mises en place pour contrôler le développement de l'oïdium en serre et en plein champ : la lutte préventive, la lutte chimique, la lutte génétique et la lutte biologique. La lutte préventive consiste à adopter des mesures préventives telles que les rotations de cultures, le désherbage régulier des parcelles (pour éviter la conservation du mycélium sur les hôtes alternatifs) et le contrôle de l'humidité dans les serres. La lutte chimique reste la méthode la plus utilisée avec l'utilisation de produits chimiques tels que le soufre, le myclobutanil, le bupirimate, etc. Une autre alternative à ces méthodes est la lutte génétique. Elle consiste à sélectionner les plantes qui sont génétiquement résistantes à l'agent pathogène. Enfin, le biocontrôle est une méthode respectueuse de l'environnement qui consiste à utiliser des produits naturellement présents dans la nature (microorganismes, extraits végétaux, animaux ou minéraux). Ils peuvent protéger la plante de plusieurs façons. Les mécanismes d'action les plus connus actuellement sont l'antibiose, l'hyperparasitisme, la compétition pour l'espace et les nutriments, l'interférence avec la pathogenèse et l'induction de mécanismes de défense des plantes (Turc et al. 2022). Les mécanismes d'action induits dépendent du type de biocontrôles.

1.3 Mécanisme de défense de la plante

Les plantes dans leurs environnements naturels sont continuellement soumises aux agressions abiotiques (stress hydrique, stress thermique, etc.) et biotiques (agents pathogènes). Pour se protéger, elles disposent de barrières mécaniques (cuticule, paroi pectocellulosique, etc.) et de barrières chimiques telles que les métabolites secondaires antimicrobiens dont les phytoalexines (phénylpropanoïdes, sesquiterpènes, terpenoïdes, polyacétylènes, etc) et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Piasentin 2013; Castro-Moretti et al. 2020).

Les plantes pour se défendre contre les microorganismes mettent en place un ensemble de mécanismes complexes. Les mécanismes de défense des plantes sont régis par l'interaction entre l'agent pathogène, la plante hôte et l'environnement. Les défenses de la plante sont déclenchées par deux mécanismes de reconnaissances. Le premier est la reconnaissance des molécules communes à différents microorganismes pathogéniques ou non pathogéniques (Pathogen or Microorganism or Danger-Associated Molecular Pattern), telles que la flagelline des bactéries ou l'ergostérol chez les champignons. Cette reconnaissance est effectuée par des récepteurs transmembranaires appelés Pattern Recognition Receptors (PRRs) (Lecomte 2013), et induit une réponse de défense appelée PAMP-triggered immunity, ou PTI, qui vise à empêcher la colonisation par l'agent pathogène.

Le deuxième mécanisme de reconnaissance est connu sous le nom de « reconnaissance gène pour gène ». Il s'agit de la reconnaissance d'un gène effecteur du pathogène par des protéines de résistance de la plante. Il induit une défense spécifique contre l'agent pathogène détecté. Ce mécanisme est appelé ETI (Effector Triggered Immunity). Une fois l'agent pathogène ou son effecteur reconnu par la cellule, des cascades de réactions biochimiques sont enclenchées avec l'induction des voies de signalisation de l'acide salicylique, de l'acide jasmonique ou de l'éthylène. Ces voies de signalisations peuvent ensuite entraîner des réponses systémiques dans la plante : la résistance systémique induite (RSI), régulée par l'acide jasmonique (JA) et l'éthylène (ET), et la résistance systémique acquise, régulée par l'acide salicylique (SA) (Piasentin 2013).

1.3.1 Les types de résistances

La résistance est définie comme la capacité d'une plante à prévenir ou à empêcher l'infection ou le développement d'un agent pathogène dans ses tissus. Deux types de mécanismes de défense peuvent être mis en jeu : la résistance qualitative, souvent spécifique et la résistance quantitative.

1.3.1.1 *Résistance spécifique*

La résistance qualitative est souvent une résistance "race-spécifique", c'est-à-dire qu'elle est déclenchée lorsque la plante est infectée par un agent pathogène spécifique, voire par une souche ou race particulière de l'agent pathogène. Lorsque cet agent pathogène est reconnu, une réponse hypersensible (HR), également appelée réaction « gène pour gène », est activée, ce qui conduit à la mort de la cellule infectée. Cette réaction est basée sur la reconnaissance de l'effecteur (gène d'avirulence) de l'agent pathogène par une protéine de défense (gène majeur). La HR dépend de l'acide salicylique et est associée à l'accumulation des protéines PR, (PR1, PR2, et PR5) (Taoutaou 2021). La reconnaissance de l'agent pathogène induit : i) une cascade de réactions comprenant l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), ii) l'induction de la production de métabolites secondaires (phytoalexines: phénylpropanoïdes, flavonoïdes, etc.) et iii) la synthèse de protéines PR (Thakur et al. 2019). Cela entraîne finalement la mort de la cellule infectée. Cette résistance est plus efficace contre les agents pathogènes biotrophes (Balint-Kurti 2019). Elle est monogénique et est gouvernée par des gènes de résistance majeurs, c'est-à-dire qu'un seul gène de résistance est généralement responsable de cette réaction de défense spécifique contre un agent pathogène donné.

1.3.1.2 *Résistance quantitative*

La résistance quantitative, quant à elle, est une résistance non spécifique. C'est une résistance associée à la reconnaissance des molécules des agents pathogènes (PTI). Elle est efficace contre

plusieurs souches ou races d'agents pathogènes et est donc considérée comme plus durable (Fell et al. 2023). Les mécanismes de défense impliqués dans la résistance quantitative comprennent la production de composés de lutte chimique, la signalisation hormonale via les voies de l'acide salicylique (SA), de l'acide jasmonique (JA) et de l'éthylène. Il s'agit d'une forme d'immunité non spécifique de la plante.

Ce type de résistance est souvent contrôlé par de multiples gènes de résistance de faible effet individuel et donc qualifié de résistance polygénique (Underwood et al. 2021). Ces gènes sont connus sous le nom de locus impliqués dans la variation de caractères quantitatifs (QTL). Ces QTL contribuent à la résistance quantitative (QR) contre plusieurs agents pathogènes sur une longue période. Les plantes qui possèdent des QTL associés à la résistance quantitative peuvent présenter une résistance partielle, ce qui signifie qu'elles ne sont pas complètement protégées contre les agents pathogènes, mais qu'elles peuvent tout de même réduire le développement et la propagation de l'agent pathogène.

1.4 Cartographie génétique des QTL

La cartographie génétique est la représentation graphique de la position des gènes, locus ou marqueurs sur les chromosomes. Elle s'appuie sur la fréquence de recombinaison entre les locus. Les positions des locus sont définies en centimorgan (cM). Elle permet de déterminer les régions génomiques impliquées dans la variation d'un caractère quantitatif (QTL). Il existe deux grandes méthodes d'identification des QTL : la méthode classique appelée QTL mapping et la méthode QTL-seq.

1.4.1 QTL mapping

La méthode classique, appelée « QTL mapping », repose sur des analyses statistiques qui permettent d'associer les variations phénotypiques observées dans une descendance biparentale à des régions spécifiques du génome. Cette approche implique généralement la construction de cartes génétiques à partir de marqueurs moléculaires (comme les marqueurs microsatellites ou SNP) pour identifier les régions génomiques liées à un caractère d'intérêt. Elle est faite en utilisant des modèles statistiques tels que l'analyse de la variance (ANOVA), la régression linéaire ou le maximum de vraisemblance. Les méthodes les plus utilisées pour la détection de QTL par le QTL-mapping sont : la cartographie marqueur par marqueur ou simple mapping (SM), le simple interval mapping (SIM) et le composite interval mapping (CIM).

Le SM consiste à analyser marqueur par marqueur l'existence d'un déséquilibre de liaison avec les gènes associés au phénotype. Elle est plus facile à réaliser et ne nécessite pas de connaître la position des marqueurs. Cependant, elle est peu précise car elle ne prend pas en compte les recombinaisons entre marqueurs.

La méthode SIM consiste à tester la présence d'un QTL à des points régulièrement espacés le long du génome en utilisant les informations génotypiques aux marqueurs flanquant la position testée (carte génétique). Le test statistique correspondant se base sur le maximum de vraisemblance. Elle tient compte des intervalles entre marqueurs générant ainsi un profil de LOD (Log of the Odds Ratio) score par groupe de liaison. Le seuil de détection du QTL est arbitraire ($LOD > 2$ ou $LOD > 3$) ou calculé après un certain nombre de permutations (≥ 1000).

Beaucoup plus puissant que les deux premières méthodes, le CIM se base sur le SIM en éliminant de la résiduelle les effets des QTL non liés pour augmenter la précision en termes de localisation et d'estimation de l'effet. Il consiste tout d'abord à faire de la régression multiple pour définir les « gros » QTL, puis à choisir des marqueurs liés aux QTL et à les inclure dans le modèle comme covariable.

1.4.2 QTL-seq

Le QTL-seq (quantitative trait locus sequencing) est une méthode de détection de QTL décrite par Takagi et al. (2013), pour détecter rapidement les régions génomiques associées à des traits quantitatifs (QTL). Takagi et al. (2013), le définissent comme une méthode qui combine l'analyse des ségréants groupés en mélange d'individus contrastés (BSA) et le reséquençage du génome entier pour l'identification rapide des locus impliqués dans l'expression d'un caractère dans une population biparentale. La BSA est une méthode de détection des marqueurs associés à des traits phénotypiques en utilisant des échantillons constitués de mélange d'ADN appelés « bulks ». Le principe est : 1) phénotyper une descendance de grande taille pour un caractère donné, 2) identifier les individus aux phénotypes extrêmes, 3) constituer les bulks des phénotypes opposés en mélangeant de façon équimolaire les ADN des individus constituant le bulk, 4) séquencer les bulks et les parents et 5) comparer par rapport à un génome de référence les fréquences alléliques des deux bulks à chaque SNP (figure 3). La comparaison des fréquences alléliques permet d'identifier les marqueurs moléculaires qui sont associés au trait phénotypique d'intérêt. Dans le cas de la taille des plantes, les allèles qui sont présents en fréquence

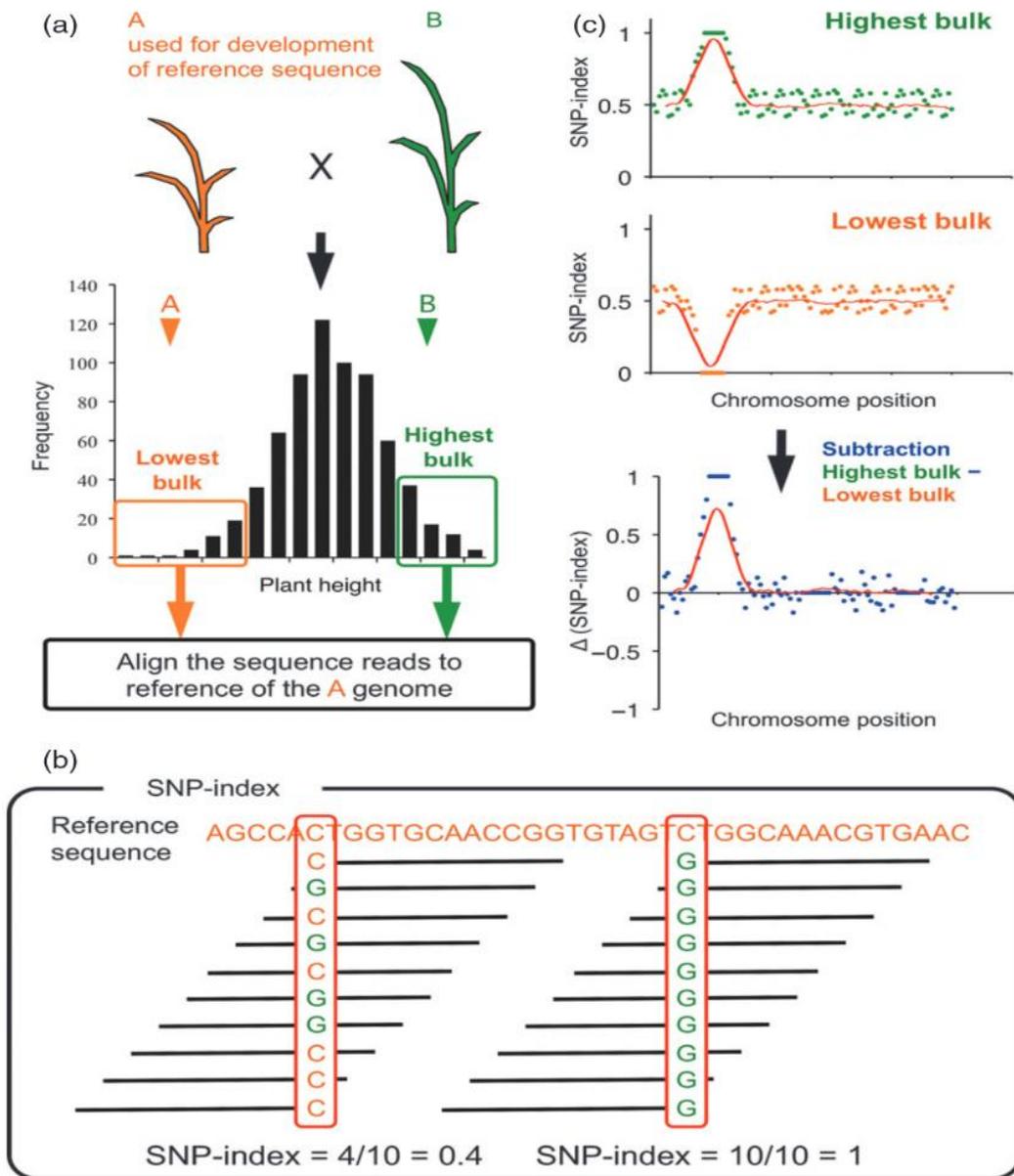


Figure 3 : Figure du principe de la méthode QTL-seq appliquée par Takagi et al. (2013) sur le riz

La figure (a) représente la distribution gaussienne du phénotype au sein de la population F2 en ségrégation.

La figure (b) montre l'alignement des lectures générées par rapport à une séquence de référence pour le calcul de l'index SNP de chaque bulk.

La partie (c) illustre les résultats du diagramme SNP-index par lequel le pic correspond à un polymorphisme possible, c'est-à-dire à un QTL lié au caractère étudié. Chaque point correspond à un SNP, tandis que la ligne représente la valeur moyenne de ces SNP. Les deux graphes du haut montrent les SNP index dans les deux bulks. Sur le troisième graphe, le delta-SNP index correspond à la soustraction de la fréquence de l'allèle alternatif du bulk « petit » à celle du bulk « grand »

élevée dans le bulk «grand», mais en faible fréquence dans le bulk ayant le phénotype opposé «petit», ou inversement sont considérés comme potentiellement associés au trait étudié. Cela est basé sur l'hypothèse que les allèles aux SNPs qui ne sont pas liés à la variation du phénotype sont représentés en fréquence égale dans les deux bulks (Takagi et al. 2013). Des tests statistiques sont faits pour déterminer le seuil de tolérance des faux positifs. Il existe deux méthodes de calcul du seuil de tolérance : le seuil de tolérance des faux positifs (Takagi et al. 2013) et le test G' (Magwene et al. 2011). Les SNPs qui ont une valeur supérieure au seuil choisi sont désignés QTL. Comparée à la méthode classique de détection de QTL, cette méthode permet de génotyper ou séquencer que quatre échantillons : les deux parents de la descendance et les deux bulks (environ 10 % à 20% des individus de la descendance pour chaque bulk) (Magwene et al. 2011; Takagi et al. 2013). Néanmoins, le phénotypage doit être réalisé sur une descendance de grande taille (entre 300 et 500 individus) (Netpakdee et al. 2022). Elle peut aussi améliorer l'efficacité du travail (Yang et al. 2021). Elle a été utilisée avec succès sur la tomate (Illa-Berenguer et al. 2015), le piment (Park et al. 2019), le riz (Yang et al. 2021), le concombre (Lu et al. 2014) et le chou champêtre (Zhang et al. 2020).

1.5 Gènes de résistance à l'oïdium

Les tomates cultivées sont presque toutes sensibles à *O. neolycopersici*. Des résistances ont été identifiées chez les plantes sauvages interfécondes : *Ol-1* chez *S. habrochaites* G1.1560 (Huang et al. 2000), *ol-2* chez *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA-1230 (Ciccarese et al. 1998), *Ol-3* chez *S. habrochaites* G1.1290 (Huang et al. 2000), *Ol-4* chez *S. peruvianum* LA2172 (Bai 2004), *Ol-5* chez *S. habrochaites* PI247087 (Bai et al. 2005), *Ol-6* dont l'origine n'est pas connue (Bai et al. 2005) et 3 QTL de résistance (*Ol-qt11*, *Ol-qt12* et *Ol-qt13*) identifiés tous les trois chez *S. neorickii* G1.1601 (Bai et al. 2003).

Les gènes de résistance monogéniques dominant *Ol-1*, *Ol-3*, *Ol-4*, *Ol-5* et *Ol-6* ont été tous cartographiés sur le chromosome 6 (annexe vi). Les gènes *Ol-1*, *Ol-3* et *Ol-5* sont sur le bras court et *Ol-4* et *Ol-6*, sur le bras long. Des études suggèrent que *Ol-1* et *Ol-3* sont des variants alléliques et que *Ol-4* et *Ol-6* sont également des variants alléliques et homologues du gène *Mi-1* (Bai et al. 2018).

Les gènes de résistance dominants ont une action post-haustoriale et induisent la HR dont l'intensité dépend du gène (Huang et al. 2000; Bai et al. 2005). Les gènes *Ol-1*, *Ol-3* et *Ol-5* confèrent une résistance incomplète. Contrairement aux gènes *Ol-1*, 3 et 5, les gènes *Ol-4* et *Ol-6* confèrent une résistance complète aux souches d'oïdium testées et induisent rapidement une résistance locale (Seifi et al. 2012). Ils sont efficaces pour l'arrêt précoce du développement du champignon (Bai et al. 2005; Li et al. 2012; Seifi et al. 2014).

Le gène de résistance récessif *ol-2* (gène *Slmlo1* et gène *Slmlo1.1* variant allélique de *Slmlo1*) aussi appelé gène de résistance par perte de sensibilité (gène S) a été cartographié sur le chromosome 4. Il est le seul gène de résistance à *O. neolycopersici* cloné à ce jour. C'est un gène de la famille des gènes *mlo* qui a perdu sa fonction *mlo* (Bai, 2008, Kim 2018). Il est un mutant du gène *Slmlo1*. Comparé aux autres gènes de résistances, le gène *ol-2* est connu pour avoir un mécanisme de résistance non spécifique à la race et qui n'est pas basé sur la HR (Bai et al. 2005). Son mécanisme de résistance implique la formation de papilles (appositions de parois cellulaires végétales) et le dépôt de callose sur le site de la tentative de pénétration (Li et al. 2007). Cela empêche la pénétration des champignons (Bai et al. 2005). Son mécanisme de résistance serait plutôt quantitatif. Il inhibe la germination des spores, la formation des haustoria et le développement du champignon. Bien que la pénétration du champignon ne soit pas complètement évitée, il pourrait être plus durable que les autres.

En plus de ces résistances monogéniques, 3 QTL de résistances ont été aussi identifiés chez *S. neorickii* G1.1601 (Bai et al. 2003). Le *Ol-qt11* est localisé à 2,3 Mbp sur le chromosome 6 et couvre la région des gènes *Ol-1*, *Ol-3* et *Ol-5* (Bai et al. 2005; Faino et al. 2012). Les *Ol-qt12* et *Ol-qt13* sont localisés sur le chromosome 12. (Faino et al. 2012) ont trouvé que l'intervalle de confiance du *Ol-qt12* est situé à environ 2,5 Mbp sur le bras court du chromosome 12, et comprend le gène *Lv*, qui est un gène de résistance contre l'autre espèce d'oïdium de la tomate, *Leveillula taurica*. La position exacte de l'*Ol-qt13* n'a pas encore été confirmée. Cependant, il est sûr qu'il est localisé sur le bras long du chromosome 12. Ces trois QTL ont de faibles effets mais ensemble ils expliquent conjointement 68% de la variation phénotypique (Bai et al. 2003). Le mécanisme de résistance induit par ces trois QTL consiste à la fois à la réaction d'hypersensibilité rapide et la réaction d'hypersensibilité lente et à la formation de papilles (Lebeda et al. 2017).

Cinq autres QTL ont été détectés par Park et al. (2022) (annexe vii) chez 10 accessions de tomate (2 accessions (LA2181 et LA2184) de l'espèce *S. pimpinellifolium*, 5 accessions (LA0716, LA1272, LA1340, LA1674, et LA1809) de l'espèce *S. pennellii* et trois accessions (PI126445, PI134418, et PI308182) de l'espèces *S. habrochaites*). Trois de ces QTL sont situés respectivement sur les chromosomes 1, 4 et 8, et un QTL sur le chromosome 6 proche de la région des gènes *OL-1,3* et 5 et un autre sur le chromosome 12 entre les régions des QTL *Ol-qt12* et *Ol-qt13*. En dehors de ces gènes et QTL cartographiés, d'autres gènes ont été identifiés comme impliqués dans la défense de la plante contre *O. neolycopersici*. C'est le cas des gènes *Slmlo5*, *Slmlo8*, *ShWRKY41* et *ShARPC3*. Zheng et al. (2016) ont trouvé qu'une perte de fonction des gènes *Slmlo5* et *Slmlo8* entraînait une résistance plus forte à *O. neolycopersici* comparée à la résistance avec *Slmlo1* seul. Les recherches de Qinggui Lian et al. (2022), ont montré que le gène *ShWRKY41* joue un rôle positif dans l'activation de la défense et la résistance de la tomate sauvage (*S. habrochaites*) LA1777 contre *O. neolycopersici*. Selon Sun et al. (2019), le gène

ShARPC3 est un régulateur clé de la résistance à l'oïdium de la tomate causée par *O. neolycopersici*. Il est impliqué dans l'accumulation des protéines PR (Pathogenesis-Related) (PR1b1 (PR1), Glucanase A (PR2), Glucanase B (PR2-like), Chitinase 3 (PR3), et Chitinase 9 (PR3-like)) médié par la voie de signalisation de SA. Les gènes codant les PR sont des gènes impliqués dans la résistance contre la pénétration des agents pathogènes (Molitor et al. 2011). Le gène *ShARPC3* est sensible à la diminution de la concentration en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) accumulé lors de l'infection par *O. neolycopersici* et à la concentration de SA. Il entraîne la formation de barrière à la pénétration du champignon.

1.6 Renforcer l'immunité de la plante grâce aux stimulateurs des défenses de la plante (SDP)

Avec la prise de conscience des effets négatifs des produits chimiques de synthèse sur l'environnement, et le contournement relativement rapide des gènes de résistance qualitatifs, l'utilisation de solutions de biocontrôle dont le mode d'action est lié à la stimulation des défenses de la plante (SDP) est aujourd'hui une pratique prometteuse qui permettrait de lutter de manière durable contre les bioagresseurs tout en respectant l'environnement et en favorisant la production intensive (Jamiołkowska 2020; Pagliarani et al. 2020). Les SDP sont des micro-organismes, des extraits bruts ou des molécules purifiées capables d'induire au sein de la plante une cascade de réactions moléculaires, biochimiques et cytologiques menant à défendre la plante contre les stressés biotiques. Ils permettent à la plante de répondre plus rapidement et plus efficacement à des stressés biotiques ainsi qu'à certains stressés abiotiques (Marolleau et al. 2013). Ils provoquent une succession d'événements comme la modification des flux ioniques tel que l'influx de Ca²⁺, la production de formes actives de l'oxygène (FAO), l'activation de MAP kinases, la phosphorylation de protéines, la synthèse de protéines PR (e.g. chitinases et glucanases) et la production de phytoalexines (Benhamou et Rey 2012; Piasentin 2013). Ils impliquent des mécanismes de défense quantitative à travers l'expression de gènes de défense aboutissant par exemple à l'activation des voies de signalisation de l'acide salicylique (SA) pour une résistance systémique acquise (RSA) et de l'acide jasmonique (AJ) pour la résistance systémique induite (RSI) (Iula et al. 2022).

Objectifs

Bien que les solutions de biocontrôle, et en particulier les SDPs, offrent une alternative potentiellement durable et écologique de protection des plantes cultivées contre les bioagresseurs, leur efficacité sur le terrain dépend de beaucoup de paramètres. Parmi ces paramètres, on compte notamment le génotype de la plante, son environnement, les effets épigénétiques et la biologie de l'agent pathogène cible (Bruce 2014, Turc et al. 2022). Afin de promouvoir une agriculture plus durable, il est essentiel de développer des stratégies de protection des cultures qui combinent différents leviers immunitaires pour moduler favorablement les mécanismes de défense des plantes.

L'objectif de ce travail est d'étudier la combinaison de deux leviers immunitaires, qui sont la résistance génétique et la stimulation des défenses de la plante, dans le cas de la protection de la tomate contre l'oïdium, maladie causée par *O. neolycopersici*. Cette étude comporte trois parties :

- 1- La première partie concerne l'étude des bases génétiques de la résistance à *O. neolycopersici*. Elle vise à comprendre les mécanismes génétiques qui déterminent la résistance et à cartographier les QTL de résistance à l'oïdium.
- 2- La seconde partie concerne l'évaluation de l'effet de la génétique de la plante sur la protection conférée par les produits vis-à-vis de l'oïdium.
- 3- La troisième partie concerne l'étude des mécanismes moléculaires et biochimiques impliqués dans la protection de la tomate contre l'oïdium conférée par les solutions de biocontrôle. Cette partie doit nous permettre de voir si des défenses de la plante sont activées par les solutions de biocontrôle testés et apprécier l'effet du génotype de la plante sur le(s) mécanisme(s) activé(s). Des approches transcriptomiques et métabolomiques seront utilisées pour déterminer le mode d'action de ces produits de biocontrôle.

En combinant l'étude des bases génétiques de la résistance et l'analyse des mécanismes moléculaires impliqués dans la protection, cette recherche vise à approfondir notre compréhension des interactions complexes entre stimulateurs des défenses de la plante et génétique de la résistance de la tomate pour le contrôle d'*O. neolycopersici*. Ces connaissances pourraient ouvrir la voie au développement de nouvelles stratégies de protection des cultures plus efficaces et plus durables. Dans ce rapport, nous ne présenterons que les résultats de l'approche métabolomique car les travaux de la partie transcriptomique sont encore en cours d'analyse.

2 Matériel et méthodes

2.1 Matériel fongique

Le matériel biologique pathogène utilisé est un isolat d'*Oidium neolycopersici* d'origine française. Il est conservé sur des plantes de tomate sensibles (accession Monalbo), dans une chambre de culture (24°C jour, 20°C nuit, 75 % d'humidité et 16h de lumière). Le transfert se fait toutes les deux semaines sur de nouvelles plantes saines de la même accession.

2.2 Cartographie des QTL de résistance à *Oidium neolycopersici*

Expérimentation et phénotypage

Nous avons choisi d'identifier les QTL de résistance à l'oïdium à l'aide de la méthode de QTL-seq. Le dispositif expérimental était composé au total de 450 plantes F2 issues du croisement interspécifique entre *S. lycopersicum* Rose de Berne (RdB, le parent sensible) et *S. cheesmaniae* (G21, le parent résistant), pour étudier le déterminisme génétique de la résistance, en utilisant 18 parents sensibles, 18 parents résistants et 9 F1 comme témoins. Les plantes ont été réparties aléatoirement dans trois tunnels contenant le même nombre de plantes (6 plantes par parent, 3 F1 et 150 F2). Les plantes F2 ont été phénotypées semi-quantitativement. Les plantes ont été inoculées trois fois avec une solution concentrée à 10^4 spores/mL, en raison de 10 L pour les trois tunnels. Elles ont été incubées pendant six semaines. Les symptômes ont été évalués selon l'échelle de notation allant de 0 à 9, évaluée sur une notation à trois niveaux : plante entière + deux feuilles dans la zone inoculée par l'agent pathogène + note de présence de nécrose (annexe i). Deux groupes des plantes ont été formés : le groupe GIS (groupe des individus sensibles) correspondant aux plantes de phénotype allant de 7 à 9 et le groupe GIR (groupe des individus résistants) correspondant aux plantes de phénotype 0. Quarante-huit individus de chaque groupe ont été bouturés puis élevés dans une chambre climatique (22°C le jour, 20°C la nuit, 85% d'humidité, et 14h d'éclairage). Deux semaines après le phénotypage, les 176 plantes bouturées ont été inoculées avec une suspension de spores d'*O. neolycopersici* à 2.10^3 spores/mL pour confirmer les phénotypes de la première notation. Trois semaines après le phénotypage, un deuxième phénotypage a été réalisé sur les 176 plantes sélectionnées sous tunnel. Après avoir confirmé les phénotypes, les 44 plantes les plus extrêmes de chaque groupe ont été sélectionnées pour constituer les bulks pour les analyses QTL-seq.

Extraction d'ADN

Pour la constitution des ADN des deux bulks, 50 mg de feuilles a été prélevé sur les 176 F2 sélectionnées après le premier phénotypage. Pour le parent G21, 400 mg de feuilles ont été prélevées sur 2 plantes. Le parent sensible n'a pas été prélevé car nous disposions déjà de la séquence de son génome. L'extraction d'ADN est réalisée suivant le protocole du Kit « Qiagen DNeasy 96 Plant Kit » (annexe ii). Une fois les ADN extraits, nous les avons dosés à l'aide d'un fluorimètre en utilisant le réactif Qubit pour déterminer la concentration d'ADN extrait pour chaque individu. Le dosage a été réalisé en utilisant un mélange de 5 µL d'ADN dilué au 10^{ième} et de 5 µL de Qubit contenant le réactif dilué au 100^{ième}. La qualité des ADN a été évaluée par absorbance au Nanodrop pour vérifier leur pureté à partir des rapports d'absorbance à 260/280 nm et à 260/230 nm. Une vérification sur gel est réalisée pour nous assurer de la pureté des échantillons et nous assurer que les ADN n'étaient pas dégradés. Enfin, les ADN ont été normalisés à une concentration de 20 ng/µL.

Constitution des Bulks

L'ADN génomique de 44 individus sensibles les plus extrêmes et de 44 individus résistants les plus extrêmes a été sélectionné pour former le bulk sensible (BS) et le bulk résistant (BR). La sélection s'est faite en éliminant les ADN des plantes pour lesquelles des phénotypes différents ont été observés entre le premier et le deuxième phénotypage, ainsi qu'en gardant uniquement les plantes pour lesquelles nous avons une quantité d'ADN suffisante (200 ng). 44 plantes ont été choisies pour chaque bulk, en partant des phénotypes les plus extrêmes. Les bulks ont ainsi été constitués en prélevant dans chaque puit choisi la quantité d'ADN nécessaire pour avoir 200 ng/plante. Les ADN des bulks et du parents G21 ont ensuite été purifiés à l'aide de deux méthodes : la méthode Qiagen (annexe iii A) et la méthode de précipitation à l'acétate de sodium (annexe iii B). Après dosage au Qubit et les vérifications de la pureté au Nanodrop et sur gel, pour chaque bulk et le parent G21 les deux ADN obtenus à partir des deux méthodes de purifications ont été mélangés. Les quantités et concentrations demandées par la plateforme de séquençage (EPGV) étaient de 3 µg d'ADN à 30 ng/µL au minimum. Nous avons fourni 80 ng/µL dans un volume de 180 µL pour le BS, 45 ng/µL dans 180 µL pour le BR et 60 ng/µL dans 90 µL pour G21.

Séquençage

Dans le cadre de notre étude nous avons décidé de faire du QTL-seq en séquençant le génome entier (séquençage whole genome, WGS). Le séquençage a été fait par la plateforme de séquençage de INRAe (EPGV) à Evry. Les échantillons de BS et de BR ont été séquencés à des profondeurs moyennes respectivement de 70x et de 92x. Quant au parent G21 il a été séquencé avec une profondeur de 13.9x.

2.3 Réponse de la tomate à l'application de produits de biocontrôle pour lutter contre *Oïdium neolycopersici*

2.3.1 Effet génétique de l'efficacité de la protection des produits de biocontrôle

Pour évaluer l'héritabilité du pourcentage de protection contre l'oïdium, trois produits de biocontrôle (P4, P5 et P7 (annexe iv)) et 12 variétés de tomates ayant des niveaux de sensibilité équivalente à l'oïdium (Clodano, Criollo, Cisterno, LA1420, Vir2759, LA2619, Ecu284, Vir774, Vir884, Marpha 2, Red Cherry Small et Red Plum (annexe v)) ont été sélectionnés en fonction des résultats d'essais antérieurs. Les essais ont été menés sur une période de trois ans dans six tunnels différents (T1 à T6), chacun étant constitué d'un dispositif expérimental complètement randomisé avec quatre traitements (témoin non traité (TNT), P4, P5 et P7) et douze accessions, avec cinq plantes par accession. Chaque tunnel a été inoculé artificiellement avec une suspension de spores d'*O. neolycopersici* (4.10^6 spores/mL). Les cinq premiers tunnels ont été mis en place en 2021 et 2022 et le sixième en 2023 pendant le stage. Le tunnel T3 n'a pas été pris en compte pour les analyses car le phénotypage n'a pas été fait à cause d'une absence de développement de la maladie.

Traitement et phénotypage

Le traitement et le phénotypage des plantes ont été faits de la même manière pour toutes les expérimentations faites avec les produits de biocontrôle. Cinq semaines après le semis, les traitements sont effectués sept et trois jours avant l'inoculation avec *O. neolycopersici* (J-7 et J-3). Des anneaux sont mis sur les plantes après le traitement avec les produits à J-7 pour marquer la taille à laquelle elles ont été traitées pour la première fois. Le phénotypage est ainsi fait entre 9 et 14 jours après l'inoculation. Il est réalisé sur la première feuille en dessous de l'anneau. Il consiste à : 1) compter le nombre de taches d'oïdium sur la feuille et 2) calculer la surface foliaire à l'aide du logiciel FIJI (nouvelle version de ImageJ) à partir de photos de ces feuilles. Ces données sont utilisées pour calculer le nombre de taches par cm² qui est la variable d'intérêt.

2.3.2 Mode d'action des produits de biocontrôle : approche par métabolomique

Cinq accessions de tomate (Clodano, Criollo, Marpha 2, Ecu284 et Vir884) et deux produits P4 et P7 sur la base des résultats antérieurs portant sur le pourcentage de protection des plantes contre l'oïdium de la tomate ont été utilisés pour les analyses métabolomiques. Le protocole expérimental était composé de six modalités : témoin non traité et non inoculé (TNT-NI), témoin non traité et inoculé (TNT-I), traitement P4 non inoculé (P4-NI), traitement P7 non inoculé (P7-NI), traitement P4 inoculé (P4-I) et traitement P7 inoculé (P7-I). Les traitements ont été faits à J-7 et à J-3. Les feuilles ont été prélevées juste avant l'inoculation de l'oïdium (J0) et à trois jours après l'inoculation (J3). À J3, les plantes

inoculées et non inoculées ont été prélevées. Le prélèvement a consisté à prendre 20 à 25 disques de 10mm de feuilles sur chaque plante. Après le prélèvement, les feuilles ont été lyophilisées à -80°C pendant 24h, sous une pression de 80 Pa. Elles ont été envoyées à la Plateforme d'Analyse Structurale et Métabolomique (PASM) de l'ENSAIA à Nancy pour les analyses métabolomiques. Les plantes ont été incubées après dans une chambre climatique (22°C le jour, 20°C la nuit, 85% d'humidité, et 14h d'éclairage) durant J9, puis phénotypées pour faire des liens avec les résultats de la métabolomique.

2.4 Analyses statistiques des données

Les données de phénotypage ont été analysées par analyse de la variance (ANOVA) pour tester la significativité de la différence entre traitements, entre accessions et les effets tunnels et les interactions tunnel x accessions. Le test de comparaison de moyennes post hoc, HSD (Honestly Significant Différence) a été utilisé pour comparer deux à deux les moyennes. Les données ont été analysées à l'aide des logiciels Rstudio et Excel.

Les données de la métabolomiques ont été analysées à l'aide des packages RandomForest et mixOmics sur Rstudio. Les aires de détection des molécules ont été transformées en log10 avant les analyses statistiques.

Détection des QTL

La détection des QTL a été faite à partir de la méthode QTL-seq développée par Takagi et al. (2013). Nous avons utilisé le pipeline développé par Ha Trang PHUNG (Stage INRAE-GAFL 2023). Ce pipeline permet d'importer les fichier fastq, de les nettoyer (supprimer les fragments d'adaptateur, supprimer les séquences de mauvaise qualité), de mapper les séquences sur un génome de référence, d'identifier les polymorphismes entre chaque parent et de quantifier la présence de chaque allèle pour chaque SNP dans les deux bulks. Ces données sont ensuite utilisées faire l'analyse QTL-seq avec le script R de Mansfeld et Grumet (2018). Le package QTLseqr développé par Mansfeld et Grumet (2018) utilise deux méthodes d'analyse QTL-seq : la méthode QTLseq de Takagi et al. (2013) et la méthode du G' de Magwene et al. (2011).

Calcul des effets génétiques

L'effet génétique des produits de biocontrôle a été calculé en utilisant la formule de l'héritabilité du dispositif à aide des packages SpATS et blme. Nous avons utilisé le package SpATS pour tenir compte de l'effet de la position des plantes dans les tunnels. En appliquant la fonction SpATS aux données de chaque tunnel, nous avons obtenu pour chaque tunnel les valeurs ajustées du nombre de taches par cm². À partir de ces valeurs ajustées, nous avons calculé le pourcentage de protection avec la formule suivante :

$$PP = \frac{1 - Nb \text{ de spots/cm}^2(ij)}{\text{Moy. t} \left(nb \text{ de } \frac{\text{spots}}{\text{cm}^2} \right)_j} \times 100$$

Où, i est le numéro de la répétition, j est l'indice de l'accession, et Moy.t(nb de spots/cm²) est le nombre de spots moyen par centimètre carré d'une accession dans le traitement témoin.

Équation 1 : Formule de calcul du pourcentage de protection

Nous avons ensuite utilisé un modèle mixte linéaire avec le package blme pour estimer les variances des effets aléatoires et calculer l'héritabilité de la protection que confère chaque produit. Pour chaque produit, nous avons utilisé le modèle suivant :

$$PP = \mu + \text{Accession} + \text{Tunnel} + X/\text{Tunnel} + \text{Accession} \times \text{Tunnel} + \text{Résidus}$$

Où μ est le pourcentage de protection moyen du produit, Accession, l'effet génétique qui suit une loi normale $N(0, Vg)$, Accession x Tunnel, l'effet de l'interaction tunnel x accession, qui suit une loi normale $N(0, Vgt)$ et Résidus suit une loi normale $N(0, Vr)$, Tunnel, l'effet des tunnels et X/Tunnel, effet de la position des plantes sachant le tunnel dans lequel elles sont. Les variables Tunnel et X/Tunnel sont des effets fixes du modèle.

Équation 2 : Modèle mixte linéaire utilisé pour l'estimation des variances

L'héritabilité est calculée comme suit :

$$H^2 = \frac{Vg}{Vg + \frac{Vgt}{5} + \frac{Vr}{25}}$$

où Vg correspond à la variance génétique, Vgt correspond à la variance de l'interaction Accession x Tunnel et Vr correspond à la variance résiduelle.

Équation 3 : Formule utilisée pour calculer l'effet génétique (héritabilité)

3 Résultats

3.1 Les QTL de résistance à l'Oïdium

3.1.1 Distribution des F2

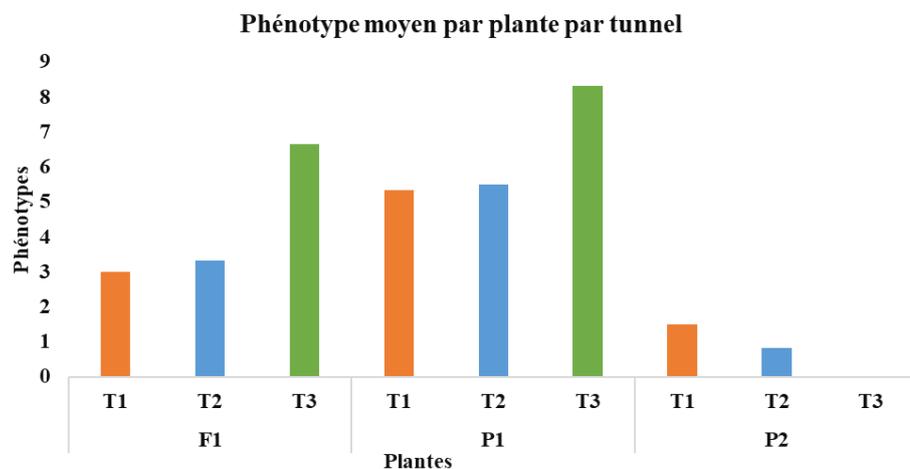
Afin de détecter les QTL de résistance de la tomate chez l'accession G21, les données de phénotypage de toute la descendance F2B-G21 ont été utilisées. Toutes les plantes du génotype RdB présentent des symptômes de sensibilité à l'oïdium (phénotype allant de 6 à 9). Les plantes du parent G21 sont résistantes à l'oïdium, cependant en fonction du tunnel, la note peut varier de 0 à 2. Les plantes F1 ont des phénotypes intermédiaires allant de 3 à 7. L'analyse des données phénotypiques a permis d'observer une distribution phénotypique des F2 en cinq groupes (figure 4b) : les individus de phénotype 0 (extrêmes résistants), les individus ayant le phénotype allant de 1 à 2 (résistants), les individus ayant le phénotype allant de 3 à 5 (phénotype intermédiaire), les individus ayant le phénotype allant de 6 à 8 (sensibles) et les individus ayant le phénotype 9 (extrêmes sensibles). Les deux extrêmes (0 et 9) représentent 56% de la descendance avec des effectifs respectifs de 162 et 77 individus.

3.1.2 Cartographie génétique des locus

L'objectif de cette analyse est d'identifier les régions génomiques impliquées dans la résistance de G21 à *O. neolycopersici*. Nous avons utilisé la méthode de détection de QTL appelée « QTL-seq ». Les données analysées sont des séquences du génome entier de quatre échantillons : parent sensible (Rose de Berne), parent résistant (G21) et les deux bulks (44 plantes sensibles et 44 plantes résistantes). Les analyses ont été faites en utilisant le pipeline de détection de QTL développé par Ha Trang (Stage 2023, INRAe, GAFL). Les QTL ont des seuils de tolérance des faux positifs de Takagi et al. (2013) et le test G' de Magwene et al. (2011).

En utilisant la méthode de calcul du seuil de tolérance des faux positifs de Takagi et al. (2013), nous avons observé sur le chromosome 9, des piques de delta-SNP-index supérieures au seuil de tolérance des faux positifs à 5%, mais inférieures aux autres seuils (figure 5). Les autres chromosomes ont des delta-SNP-index inférieurs à tous les seuils (5%, 1% et 0,1%) définis. Cependant, les delta-SNP-index des chromosomes 3 et 8 sont proches du seuil de 5%. Il y a donc un QTL de résistance à *O. neolycopersici* sur le chromosome 9, sur un intervalle comprenant pratiquement la totalité du chromosome, en distances physiques (Mb). Avec la méthode du test G', nous n'avons pas détecté de QTL de résistance à l'oïdium, avec le seuil de significativité (1%) implémenté par défaut dans le pipeline (figure 6).

a)



b)

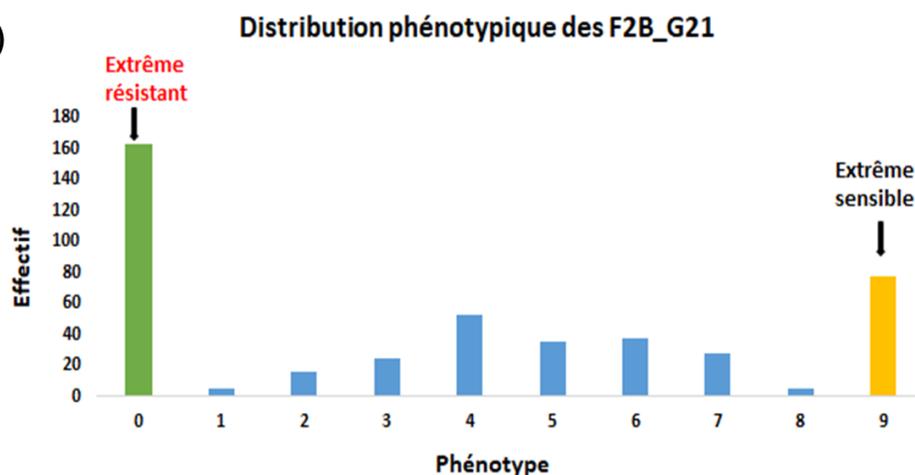


Figure 4 : Phénotype des parents (P1=RdB et P2=G21), des F1 et des 443 plantes de la descendance F2 (RdB x G21) à *O. neolycopersici*.

a) Distribution des phénotypes de la sensibilité des parents (RdB et G21) et des F1 à *O. neolycopersici*. La couleur des barres indique le tunnel dans lequel le génotype a été phénotypé.

b) Distribution des phénotypes de la sensibilité des 443 plantes de la descendance F2 (RdB x G21) à *O. neolycopersici*. En vert les phénotypes extrêmes résistants, en jaune les phénotypes extrêmes sensibles et en bleu les phénotypes intermédiaires. Ces phénotypes ont été calculés en faisant la somme des notes données aux plantes à trois niveaux (niveau d'attaque sur plante entière + niveau d'attaque sur deux feuilles inoculées + présence de nécrose, voir les échelles de notations à l'annexe i). En abscisse se trouvent les phénotypes et en ordonnées sont représentés les effectifs des plantes F2 ayant ces phénotypes.

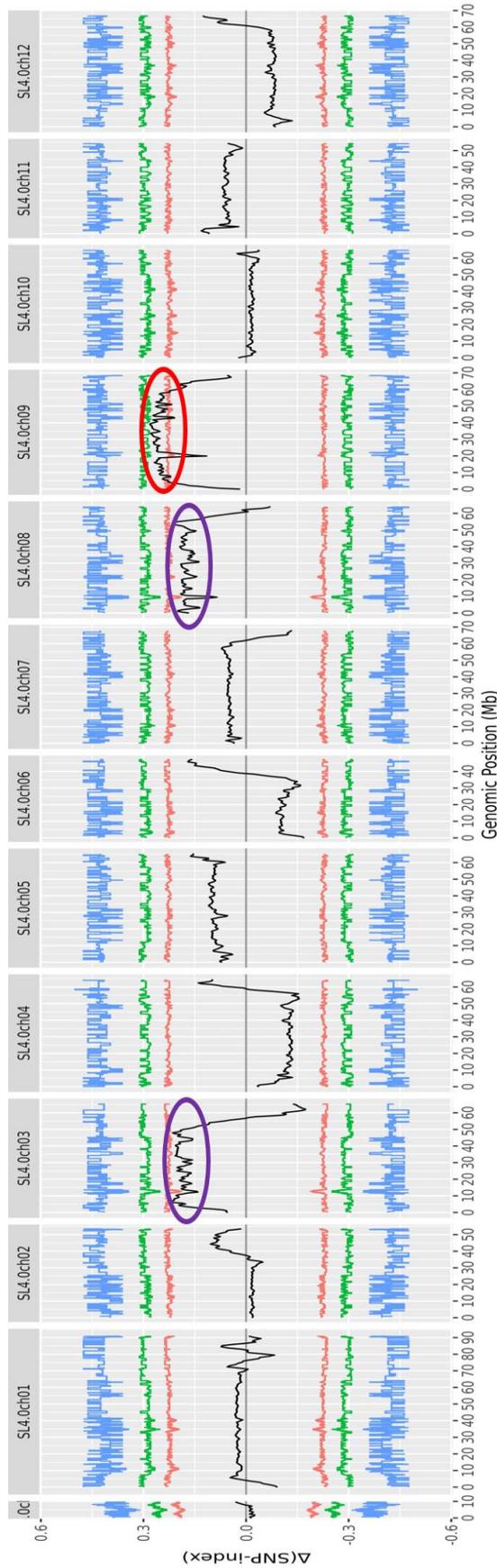


Figure 5 : Résultats de l'analyse QTL-seq utilisant la méthode de Takagi et al. (2013) pour déterminer le seuil de tolérance des faux positifs.

Les courbes en noir sont les courbes des delta-SNP-index calculés sur l'ensemble du génome. Les fenêtres sont les chromosomes avec en abscisses les distances physiques en mégabase (Mb). Les courbes en couleurs sont les seuils de tolérance des faux positifs calculés avec la méthode de Takagi et al. (2013) pour délimiter le seuil de tolérance des faux positifs. La courbe en orange correspond au seuil de tolérance des faux positifs à un risque alpha de 5%, celle en vert, correspond au seuil de tolérance des faux positifs à un intervalle de confiance de 1% et celle en bleu correspond au seuil de tolérance des faux positifs à un risque alpha de 0,1%. Lorsque le delta-SNP-index d'un SNP ou une région est au-dessus d'une de ces courbes, on dit qu'il y a un QTL à cette position pour un seuil de tolérance correspondant à l'intervalle de confiance de la courbe touchée ou dépassée. Le cercle rouge délimite la région du QTL détecté et les deux cercles violets délimitent les régions potentielles de QTL dont le signal est faible. Nous avons décidé de passer des marqueurs sur ces deux régions (en violet) pour vérifier la présence de QTL.

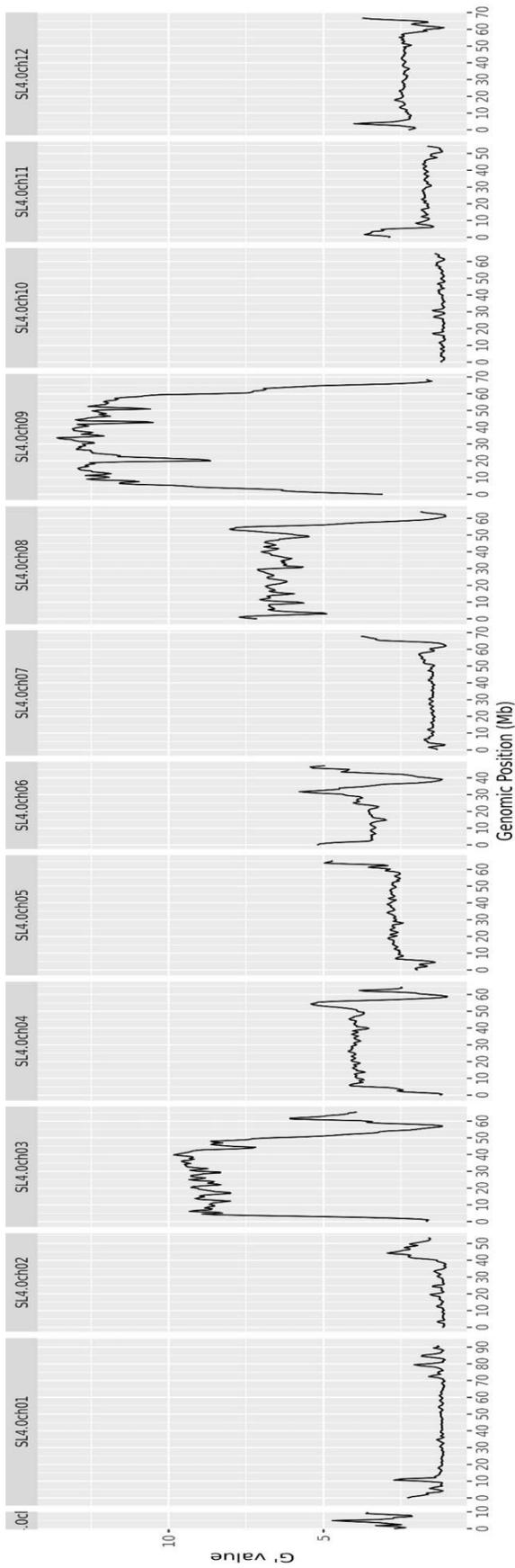


Figure 6 : Résultats de l'analyse QTL-seq utilisant le test G' pour déterminer le seuil de tolérance des faux positifs.

Les courbes en noir sont les courbes des G' value calculées à partir de la méthode de calcul du seuil de tolérance des faux positifs de Magwene et al. (2011). Les fenêtres sont les chromosomes avec en abscisses les distances physiques en mégabase (Mb). La barre du seuil de tolérance des faux positifs n'est pas présente car les G' value calculées sont toutes en-dessous du seuil.

3.1 Mécanismes d'action des produits de biocontrôle

3.1.1 Effet génétique de l'efficacité de la protection des produits

3.1.1.1 *Interaction génotypes x produits*

Ces analyses ont été faites pour étudier l'interaction génotypes x produits, avec pour objectif de rendre compte de la variabilité génétique de l'efficacité des produits de biocontrôle. Elles ont été réalisées avec les données récoltées pour le calcul des effets génétiques des produits. La figure 5 présente la réponse de 12 accessions de tomate cerises de sensibilité de base à l'oïdium proche, aux trois produits de biocontrôle candidats utilisés (P4, P5 et P7). Pour l'ensemble des accessions, nous avons observé une efficacité significative de la protection conférée par le produit P7 (34-68 %). Après le produit P7, vient le produit P4 qui a une protection plus faible (20-50%) par rapport au produit P7. Le produit P5 est le produit qui a l'efficacité la plus faible (<35%). Nous avons observé un effet nul voir inducteur de la sensibilité de P5 sur l'accession Vir2759. Les résultats montrent une variation génétique pour tous les produits. Nous avons observé une interaction entre les produits et variétés qui serait dû au fait que ces produits n'induisent pas les mêmes mécanismes de défenses chez les plantes.

3.1.1.2 *Héritabilité de l'effet génétique H^2 : Graphe des héritabilités*

Pour calculer la part de la génétique de la plante dans la variation du niveau de protection conféré par chacun des produits de biocontrôle, un essai comprenant 5 tunnels indépendants dans lesquels 4 modalités de traitements (3 produits de biocontrôle et un témoin non traité) ont été réalisés sur 12 accessions de tomate cerise de sensibilité équivalente à la maladie avec 5 plantes par accession a été mis en place. Les effets génétiques ont été obtenus en calculant l'héritabilité de l'effet des produits de biocontrôle (% protection) à partir des 12 accessions de tomate (figure 6). L'héritabilité de l'effet du produit P4 est de 64%, celle de P5 est de 54% et celle de P7 est de 66%. Cela montre que pour chacun de ces produits la variation du pourcentage de la protection observée est due en grande partie à la variation génotypique présente dans l'essai. Il est donc possible d'utiliser ces produits pour identifier les locus impliqués dans la variation de la réponse des plantes aux produits de biocontrôle.

Représentation de la moyenne de PP_après_fit par variété

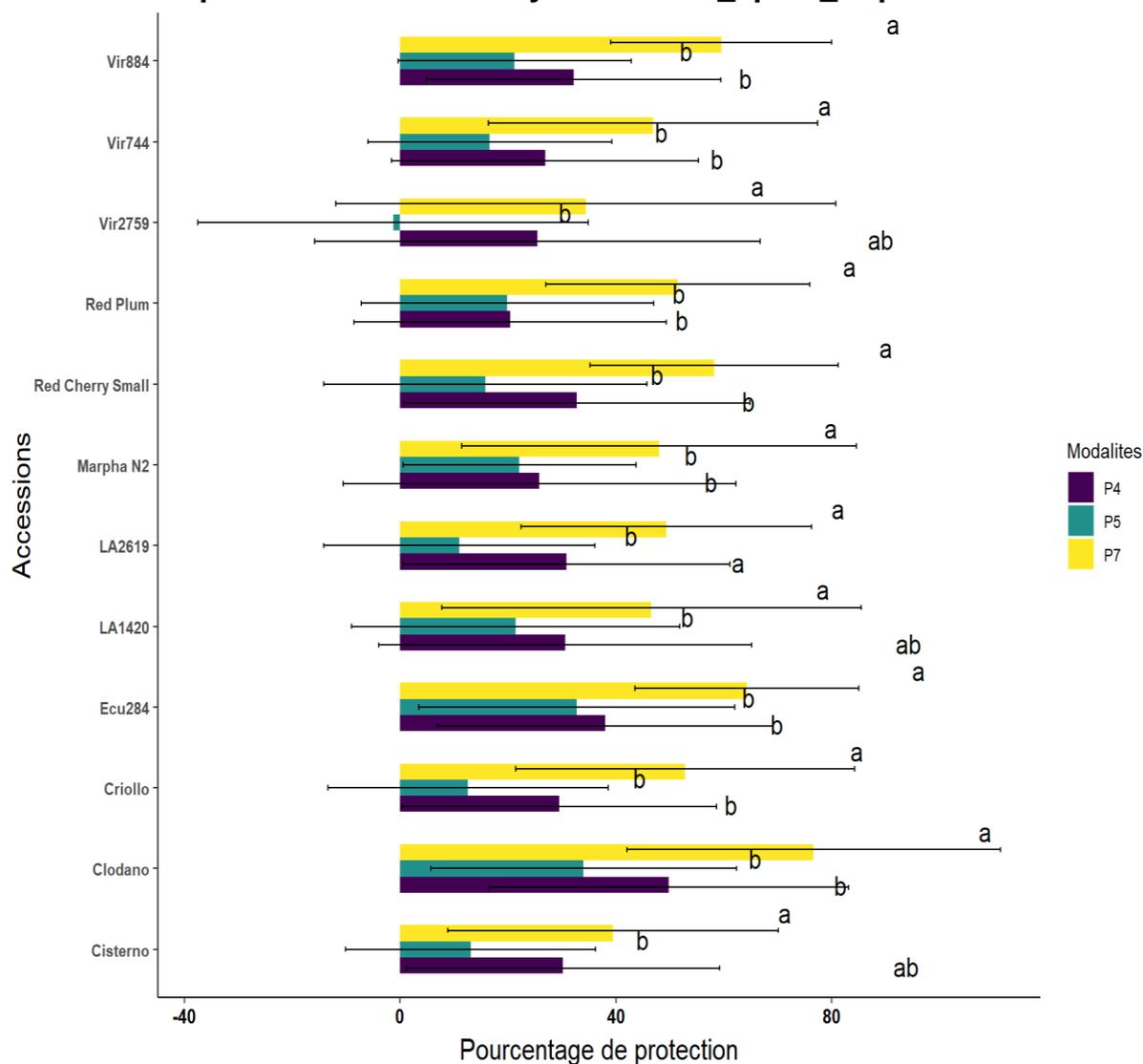


Figure 7 : Variation de l'efficacité protectrice des produits de biocontrôle en fonction des accessions de tomate.

Violet : produit P4, Vert : produit P5 et jaune : produit P7. L'axe des abscisses représente les pourcentages de protections conférées par les produits de biocontrôle contre l'oidium de la tomate causée par *O. neolycopersici*. PP_après_fit : signifie le pourcentage de protection calculé sur les données ajustées du nombre de spots par cm² après avoir utilisé le modèle SpATS pour corriger les effets spatiaux observés dans les 5 tunnels (T1, T2, T4, T5 et T6). La longueur des barres représente la valeur moyenne calculée pour chaque accession pour chaque produit. Les barres d'erreur marquent les valeurs minimales et les valeurs maximales observées pour chaque accession pour chaque produit. Nous avons 5 répétitions par accessions par modalité et par tunnel. Les lettres sur les barres sont les lettres de significativité de la différence ($p < 0.05$) de nombre de taches par cm² entre les traitements. Le test est fait indépendamment pour chaque accession. Les barres noires correspondent aux erreurs standards calculées pour chaque accession x produit.

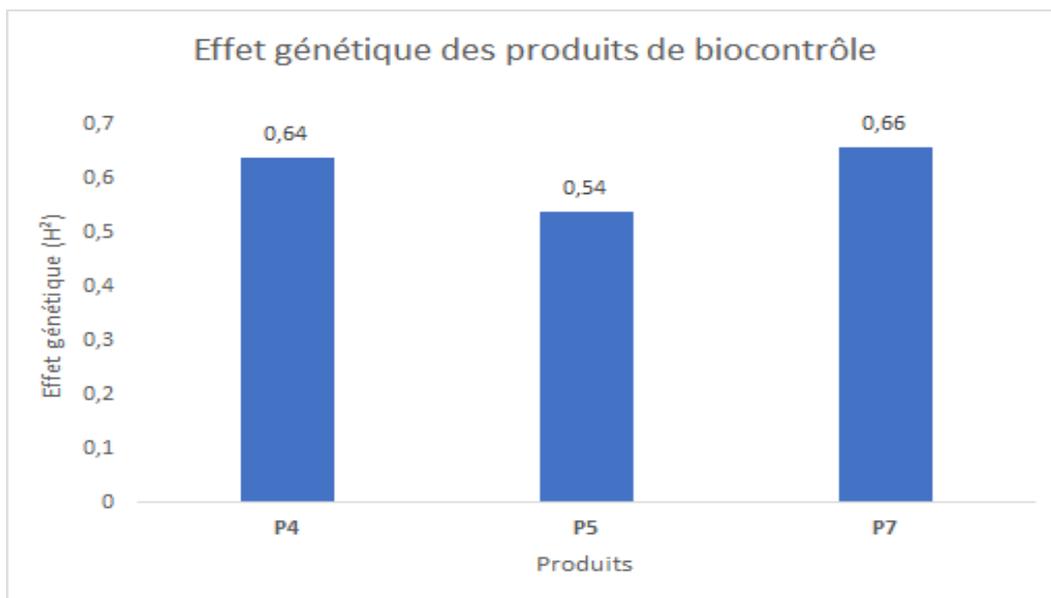


Figure 8 : Reproductibilité (effet génétique) des effets protecteurs des produits de biocontrôle.

Les effets génétiques ont été obtenus en calculant l'héritabilité des produits de biocontrôle à partir de 12 accessions de tomate de sensibilité équivalente. En abscisses nous avons représenté les produits de biocontrôle et en ordonnée la valeur de l'effet génétique mesuré (reproductibilité) pour chaque produit. Les valeurs au-dessus des barres bleues correspondent aux valeurs des effets génétiques calculés pour chaque produit de biocontrôle.

3.1.2 Métabolites secondaires produits par la plante après application des produits de biocontrôle

3.1.2.1 *Efficacité de la protection*

L'effet des traitements foliaires avec 2 produits de biocontrôle sur la protection est présenté figure 9a. Pour cet essai, les mêmes plantes ont servi à l'analyse phénotypique (sensibilité à l'oïdium) et aux analyses métabolomiques. L'analyse statistique des résultats (ANOVA 1 facteur par accession) ne révèle pas de différences significatives dans le niveau d'attaque par l'oïdium entre les traitements pour les accessions Criollo et Marpha2 (figure 9a). Pour les autres accessions des différences significatives sont observées. Le produit P7, cependant, réduit systématiquement plus fortement les symptômes sur les plantes que le produit P4. Toutes accessions confondues, ces produits protègent respectivement les plantes contre *O. neolycopersici* à 18% et 57 % respectivement pour P4 et P7 (figure 9b).

3.1.2.2 *Analyse métabolomique*

Les analyses métabolomiques ont été faite au PASM en partenariat avec le LAE (Laboratoire Agronomie et Environnement). Les échantillons ont été analysés par chromatographie liquide et spectrométrie de masse haute résolution (LC-HRMS). Cette analyse avait pour objectif d'identifier les différents métabolites secondaires produits par les plantes et déterminer s'il y a des différences de composition et de quantité selon les traitements réalisés avec les produits de biocontrôle et les géotypes de tomate. 225 échantillons de plantes (10 mg chacun), 17 QC (échantillon de contrôle qualité constitué de mélange de tous les échantillons) et 3 blancs (échantillon constitué d'un mélange de méthanol et d'eau 70/30) ont été analysés. Lors de ces analyses et après traitement des données, 3075 signaux ont été détectés. Chaque signal correspond à une combinaison unique entre la masse sur charge (m/z) mesurée par le spectromètre de masse et le temps de rétention d'élution. Lorsque c'est possible les signaux ont été annotés (c'est-à-dire qu'un nom de molécule a été attribué à un signal), quand ce n'est pas possible le signal a simplement été caractérisé par son m/z et son temps de rétention. Nous avons au total 3075 molécules à analyser. Pour faciliter les analyses, nous avons utilisé le package « randomForest ». Dans toutes cette partie, les molécules utilisées pour les analyses sont les molécules sélectionnées avec la fonction RandomForest. Cette fonction a pour objectif de sélectionner les variables les plus importantes qui selon un critère donné (différence entre accessions, différence entre produits, etc.), permettent de discriminer les échantillons. Cette analyse a été faite sur des données de la métabolomique transformées au log10 pour les normaliser.

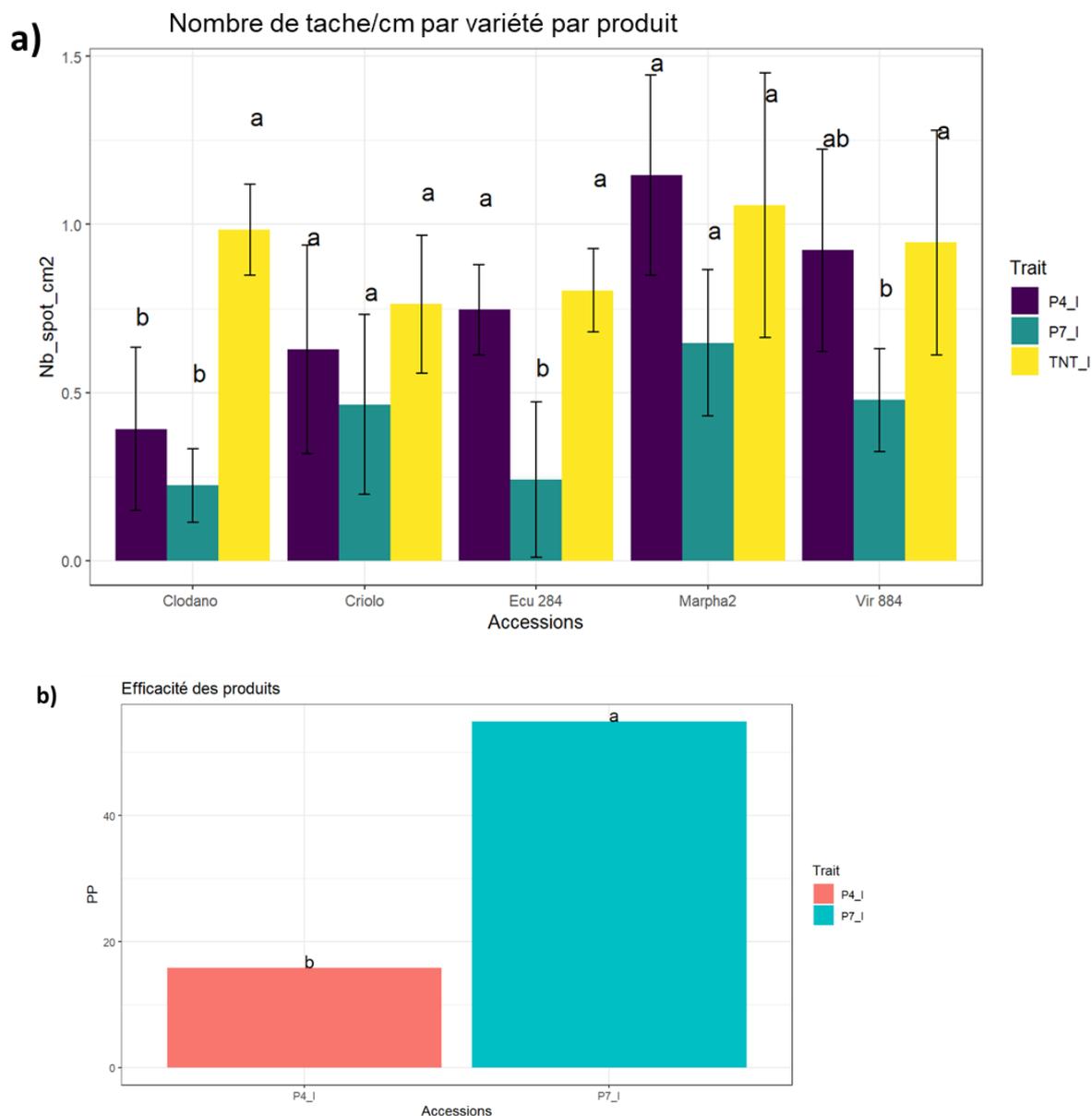


Figure 9 : Sensibilité de différentes accessions de tomate à l'oïdium après différents traitements foliaires des plantes.

a) nombre de taches par cm² des accessions par produits. Les lettres sur les barres sont les lettres de significations de la différence ($p < 0.05$) de nombre de taches par cm² entre les traitements. Le test est fait indépendamment pour chaque accession. Les barres noires correspondent aux erreurs standards calculées pour chaque accession x produit.

b) Efficacité moyenne des produits P4 et P7 évaluée en pourcentage moyen de protection des plantes contre l'oïdium. Les lettres a et b ($p < 0.05$) sur le graphe représentent les groupes formés après le test de significativité des différences, ce qui montre une différence significative entre l'efficacité de protection de P4 et celle de P7. P4 ON* : traitées avec P4 et inoculé ; P7 ON : traitées avec P7 et inoculé, TNT ON : non traité et inoculé.

Différence entre les modalités « jour » et « traitement »

L'ACP (figure 10a) a été réalisée avec 61 molécules discriminantes des modalités produit x jour, sélectionnées à partir d'un MeanDecreaseGini supérieur à 0,6. L'axe 1 (figure 10a) qui explique 59% de la variation montre une différence entre les traitements avec P7 et P4 et TNT. L'axe 3 qui explique 12 % de la variation fait une distinction entre les jours de prélèvement. Il montre que les produits de biocontrôle induisent de façon différente la production des métabolites secondaires et que celle-ci change entre J0 (avant l'inoculation de l'oïdium) et J3 (après attaque de la plante par l'oïdium). Il n'y a pas d'interaction jour x produit c'est-à-dire que l'ordre des produits reste inchangé entre J0 et J3.

A partir de la carte thermique (figure 10b), les 61 molécules ont été regroupées en 6 groupes (A, B, C, D, E et F) selon leur niveau d'expression entre les échantillons. Les groupes C, D et F sont les groupes de molécules différemment exprimées entre les traitements. En comparaison au traitement TNT, la quantité des molécules du groupe F augmente lorsque les plantes sont traitées avec le produit P4 alors que ce sont les molécules des groupes C et D qui sont le plus produites lorsque les plantes sont traitées avec le produit P7. Les groupes A, B et E sont les groupes différemment produits entre les jours, surtout les groupes A et E qui quel que soit le produit, sont produites différemment entre J0 et J3. Cela suggère que le niveau d'expression de ces molécules évolue avec le temps.

Différence entre traitement x inoculation

63 métabolites différemment exprimés entre les modalités d'inoculation en fonction du produit ont été sélectionnés avec un MeanDecreaseGini supérieur à 0,6. Ces métabolites peuvent être regroupés en 6 groupes de molécules selon la manière dont elles sont exprimées : A', B', C', D', E' et F' (figure 11). Les groupes B', C' et E' différencient les produits tandis que les groupes A', D' et F' font des différences intra-traitement. Nous observons des blocs où ces molécules sont surexprimées (couleurs vertes et jaunes) et des blocs où elles ne le sont pas (couleurs bleues et noires). Pour les produits P7 et P4, nous remarquons les modalités d'inoculation « I » et « NI » sont confondus dans le bloc non exprimé. Ce qui n'est pas le cas pour le produit TNT où la différence est marquée. Pour les produits P4 et P7, ces échantillons sont les échantillons prélevés à J3, ce qui montre qu'à J3 il n'y a pas de différence entre les échantillons inoculés et les échantillons non inoculés pour ces produits.

Différence entre les variétés

51 molécules exprimées différemment entre les variétés sur l'ensemble des échantillons (MeanDecreaseGini > 1). L'ACP (figure 12a) réalisée sur ces molécules montre une distinction en 4 groupes : un groupe formé des variétés Marpha2 et Criollo, un groupe Clodano, un groupe Vir 884 et un groupe ECU 284. Nous remarquons que quel que soit le produit appliqué, l'accession ECU 284 se

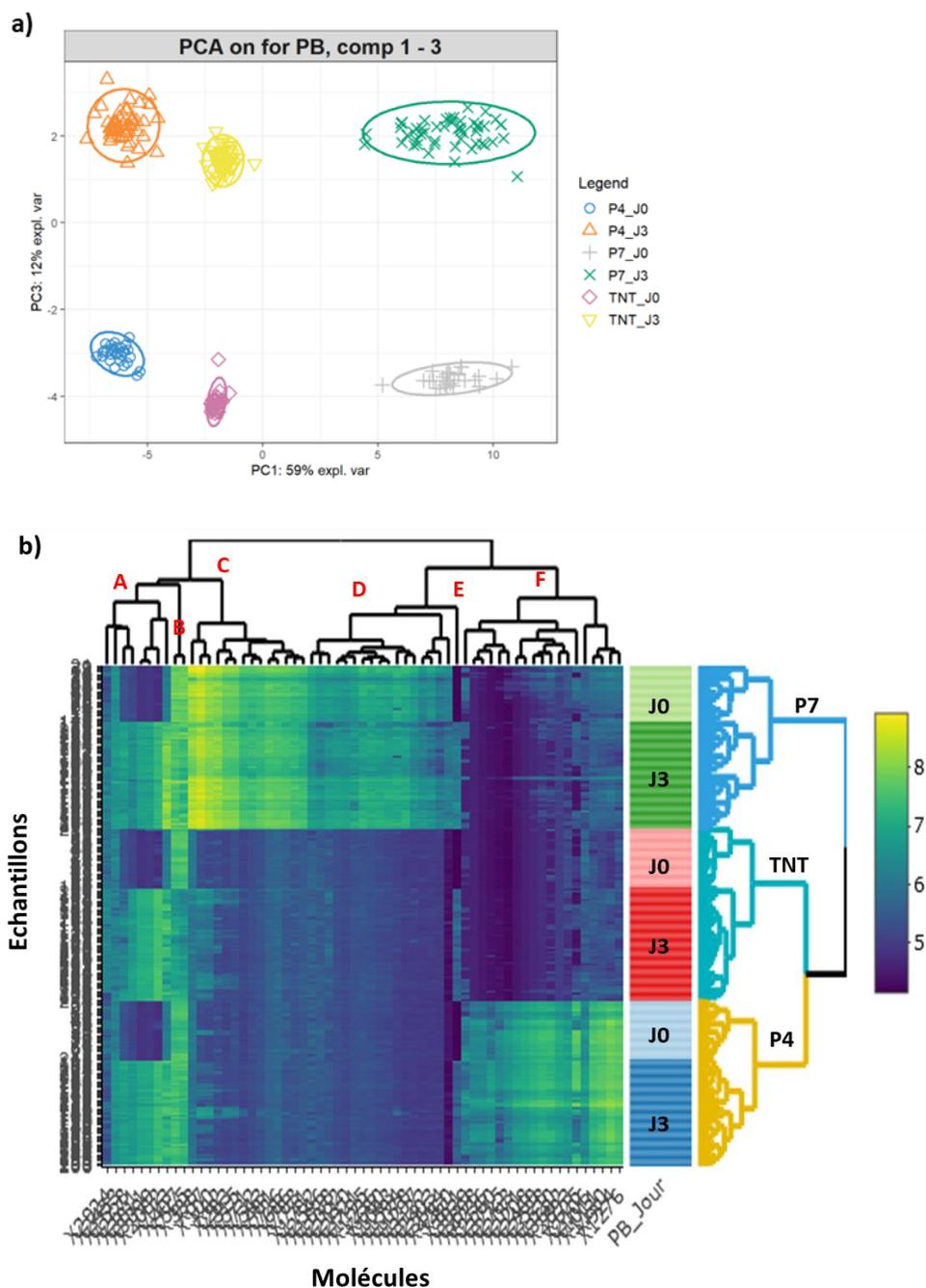


Figure 10 :Analyse des résultats des données de la métabolomique faisant la différence entre les produits de biocontrôle, les jours et entre les produits x jour.

a) ACP des échantillons sur 61 molécules sélectionnées avec un MeanDecreaseGini > 1, discriminant les modalités (produit x jour de prélèvement) testées. Il y a une différence entre modalités et on note que généralement les accessions traitées avec les produits P4 et TNT ont presque les mêmes compositions.

b) Carte thermique des 61 métabolites discriminant les interactions produit x jour. Ces métabolites ont été sélectionnés avec un MeanDecreaseGini > 0,6. Les groupes A, B, C, D, E et F formés sur l'axe des abscisses sont les groupes moléculaires qui différencient les produits à J0 et J3, et entre jours. Les groupes de couleurs formés sur l'axe des ordonnées à droite correspondent aux échantillons traités avec le même produit.

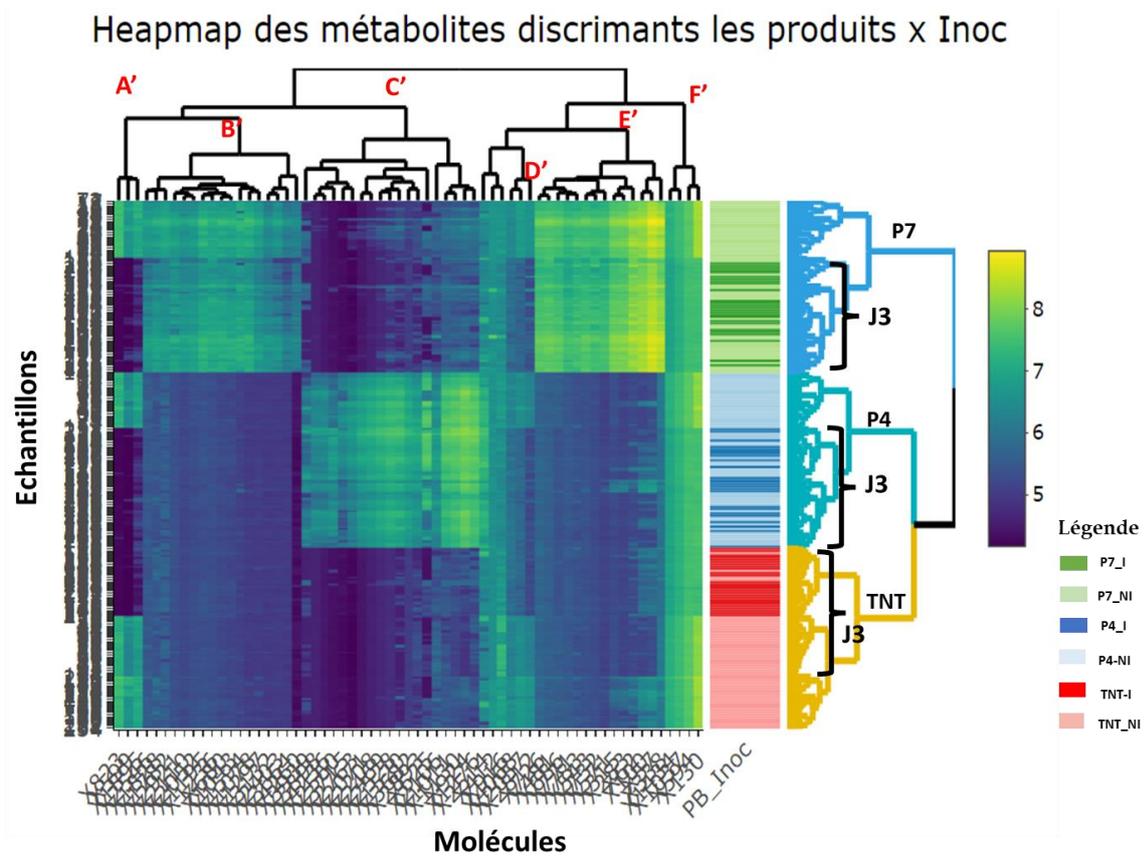


Figure 11 : Différence entre les échantillons inoculés et les échantillons non inoculés par produit.

Carte thermique des 63 métabolites discriminant les interactions produits x inoculation. Ces métabolites ont été sélectionnés avec un MeanDecreaseGini > 0,6. Les groupes A', B', C', D', E' et F' formés sur l'axe des abscisses sont les groupes qui différencient les modalités produit x inoculation. Les groupes de couleurs formés sur l'axe des ordonnées à droite correspondent aux échantillons traités avec le même produit. Les nuances de couleurs correspondent aux modalités produit x inoculation. Nous observons une différence nette entre les modalités inoculation (I et NI) du traitement TNT. Ce qui n'est pas le cas pour les deux traitements P4 et P7.

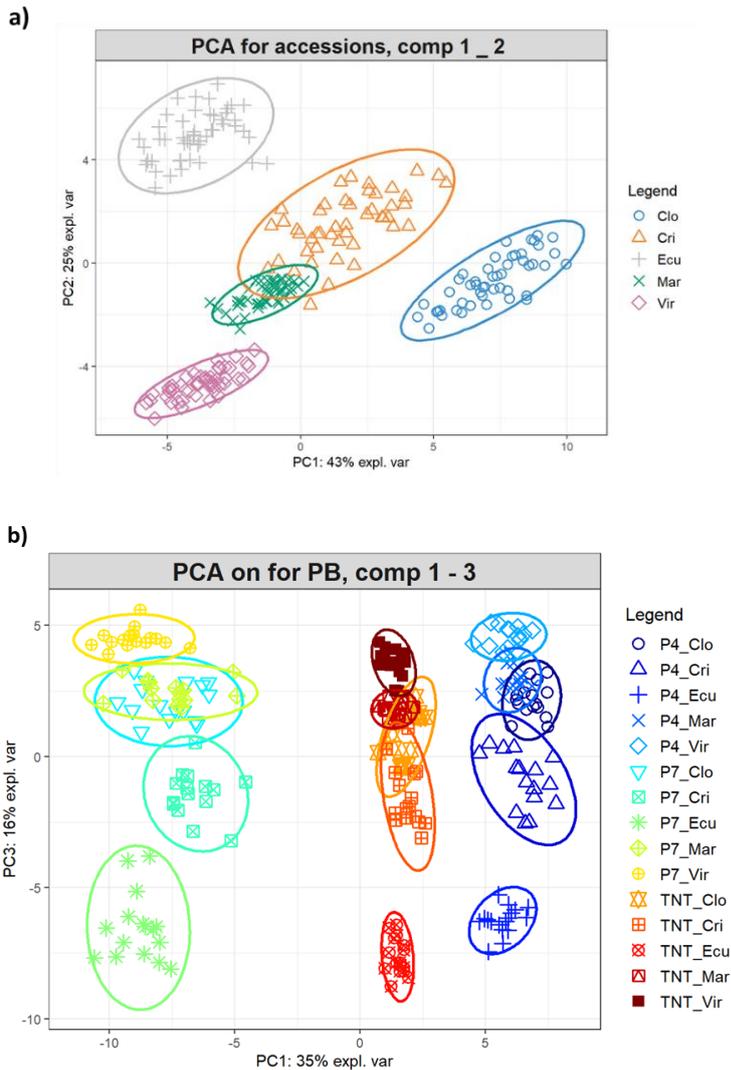


Figure 12 : Analyse des résultats de données de la métabolomique faisant la différence entre accessions et entre les interactions accessions x produits.

(a) ACP des échantillons sur 51 molécules sélectionnées avec un MeanDecreaseGini > 1, discriminant les accessions. L'accession ECU 284 est l'accession qui se distingue le plus des autres accessions. La différence entre les autres accessions est plus faible.

(b) ACP des échantillons sur 110 molécules sélectionnées avec un MeanDecreaseGini > 1, discriminant les modalités (accessions x produits). Pour ces métabolites choisis, l'effet produit est le plus marqué (axe 1). L'axe 2 montre un effet accessions avec Ecu qui se différencie des autres accessions comme sur la figure a.

distingue toujours de toutes les autres accessions même lorsqu'on fait l'analyse de l'interaction accession x produit (figure 12b). La figure (12b) montre que les différentes accessions se comportent différemment entre traitement. La représentation des quantités de produits de 110 métabolites différemment produites lorsqu'on étudie les interactions accession x produit (figure 13) montre que les métabolites peuvent être regroupées en 7 groupes moléculaires. Les groupes 2, 3 et 7 montrent plutôt une différence entre produits, tandis que les groupes 1,4, 5 et 6 marquent la différence entre les accessions.

Heapmap des métabolites discriminants les produits x Accessions

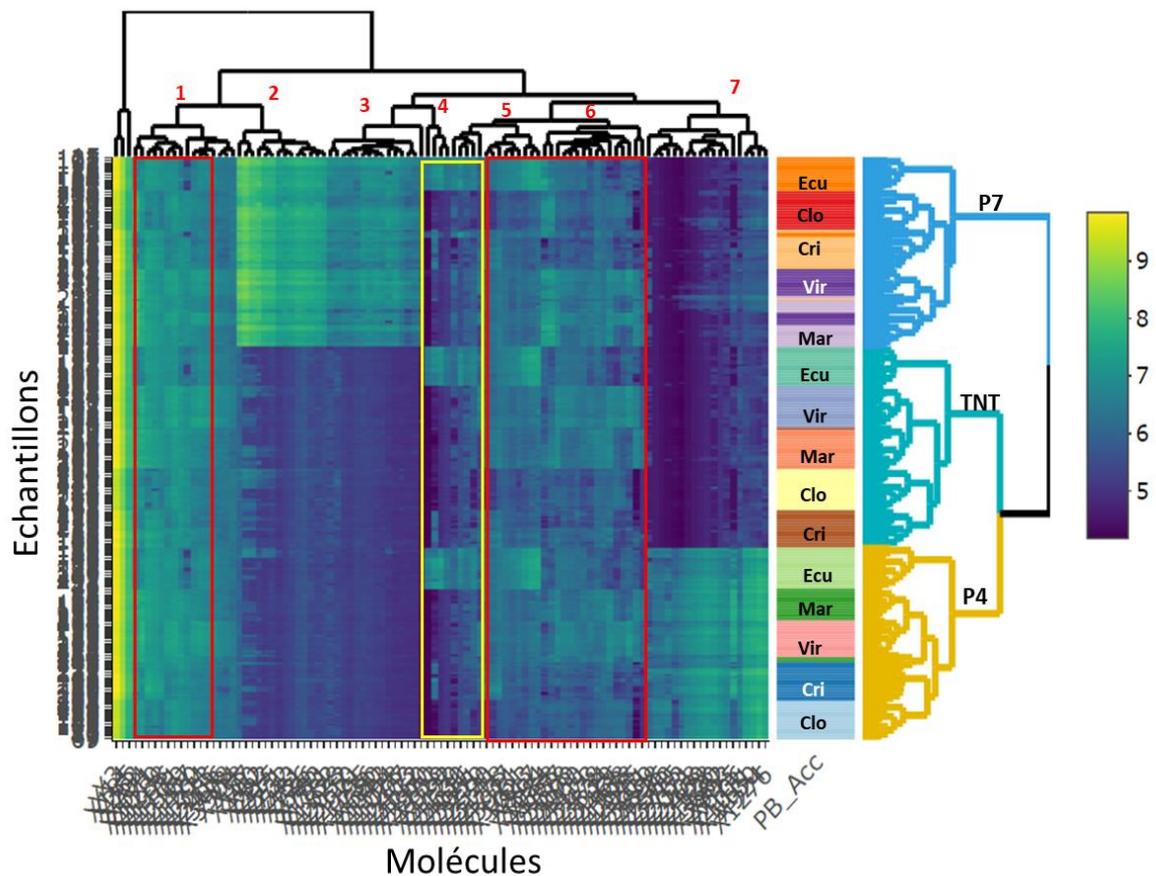


Figure 13 : Analyse des résultats de données de la métabolomique faisant la différence entre les interactions accessions x produits

Carte thermique des 101 métabolites discriminant les interactions Accessions x produits. Ces molécules ont été sélectionnées avec un MeanDecreaseGini > 0,5. Les groupes de molécules 1, 2, 3, 4, 5, 6 et 7 formés sur l'axe des abscisses sont les groupes de molécules qui différencient les accessions, et les modalités les accessions en fonction du traitement reçu. Les groupes de couleurs formés sur l'axe des ordonnées à droite correspondent aux échantillons traités avec le même produit.

4 Discussion

L'objectif de ce travail était d'étudier la combinaison de deux leviers d'action modulant l'immunité de la plante (la résistance génétique et la stimulation des défenses de la plante) chez la tomate dans le cas de la lutte contre l'oïdium, maladie causée par *O. neolycopersici*.

Détection des QTL

Les résultats de l'analyse phénotypique suggèrent que la distribution phénotypique des descendants F2B-G21 est hétérogène, avec une présence marquée de phénotypes extrêmes et une proportion significative d'individus présentant des phénotypes intermédiaires. Cela pourrait signifier que la résistance à *O. neolycopersici* dans cette population est un caractère oligogénique, c'est-à-dire que le caractère est gouverné par un QTL à effet fort et des QTL à effet faible (Miedaner et al. 2022). Elle pourrait aussi être l'effet de l'environnement. Il serait donc intéressant de répéter l'expérience pour évaluer les effets environnementaux et caractériser cette résistance. Nous avons observé que les plantes F1 ont des phénotypes intermédiaires entre le phénotype de RdB et le phénotype G21. Ce qui suggère que la résistance à l'oïdium de G21 est une résistance incomplète.

Nous avons détecté un QTL sur le chromosome 9 (seuil de tolérance à 5%) avec un faible signal (delta-SNP-index < au seuil de 1%). Ce QTL n'étant détecté qu'au seuil de 5%, il sera nécessaire de génotyper les individus de la descendance avec quelques marqueurs définis dans la région pour confirmer la présence effective d'un QTL. Les faibles signaux détectés pourraient être dus à la faible profondeur de séquençage. Takagi et al. (2013), montrent que plus la profondeur de séquençage est grande, plus la puissance de détection des QTL est importante. Ces faibles signaux pourraient aussi être dus au fait qu'il ait eu un mélange de phénotypes en constituant les bulks : si quelques individus sensibles ont été inclus dans le bulk résistant ou inversement, les valeurs de delta-SNP-index vont se rapprocher de 0. Vue l'effet du faible signal sur la puissance de détection des QTL, nous pensons qu'il serait aussi intéressant de génotyper les individus avec quelques marqueurs des chromosomes 3 et 8 sur les individus de la descendance pour voir s'il existe des QTL sur ces chromosomes. Nous n'avons pas observé de QTL avec la méthode du test G'. Cela s'explique car cette méthode est plus stringente (seuil défini à 1 %) (Mansfeld et Grumet 2018) que la méthode delta-SNP-index de Takagi et al. (2013) à 5%. Vue que le QTL a été détecté à 5% avec les delta-SNP-index, il est donc normal que nous ne détectons pas de QTL avec le test G'. Ce QTL est différent des QTL des études antérieures (Bai et al. 2018, Park et al. 2022).

Effet génétique de la réponse de la tomate à l'application de SDP

D'après les résultats de l'analyse des données, les produits P4 et P7 ont une efficacité significative (20-68%) contre l'oïdium. La variation génétique des pourcentages de protection observée montre que

l'effet des produits de biocontrôle dépend des accessions utilisées. Nous avons observé une interaction entre les accessions et les produits de biocontrôle. Nos résultats sont conformes aux résultats de Pawlowski et al. (2016), qui ont trouvé un effet génétique significatif entre les traitements ainsi qu'une interaction significative (p-value <0,05) entre les génotypes de soja et les SDP utilisés pour la lutte contre *Phytophthora sojae*.

Les valeurs de l'héritabilité des pourcentages de protections des produits de biocontrôle sont supérieures à 0,5 signifiant que la variation des pourcentages de protections de ces produits est principalement due à la variance génétique présente dans notre essai. Les résultats ont montré que les produits P4 et P7 ont les effets génétiques les plus élevés (64% et 66% respectivement). Cela signifie que la variance génétique représente une grande part de la variation des pourcentages de protection conférés par ces produits. Ces résultats sont proches de l'héritabilité de la résistance à l'oïdium du haricot (66-71%) (Binagwa et al. 2021). Nos résultats sont intéressants car c'est la première fois qu'une étude évalue l'héritabilité de la protection des produits de biocontrôle. Ils pourraient servir dans les programmes de sélection pour créer des variétés de tomate qui répondent favorablement à l'utilisation des produits de biocontrôle. Les résultats représentés ici sont calculés sur 12 accessions de tomate, ce qui est un nombre un peu juste pour estimer correctement l'héritabilité d'un caractère.

Analyse métabolomique

Nos résultats ont montré que le produit P7 est plus efficace que le produit P4 avec des efficacités de 68 et 18% respectives. Les résultats des analyses métabolomiques ont montré une différence entre le produit P7 et le traitement TNT au niveau des groupes moléculaires C et D (figure 10b). Cela signifie que le produit P7 induit l'accumulation de ces métabolites secondaires. De même que les analyses métabolomiques, l'analyse des données phénotypiques ont elles aussi montré une différence significative entre le traitement P7 et le traitement témoin. Tous ces résultats tendent à montrer que le produit P7 a un effet direct sur la plante et que du point de vue biochimique, l'efficacité de la protection contre l'oïdium conférée à la plante par le produits P7 pourrait être dû à une accumulation des molécules des groupes C et D. Nous ne pouvons pas encore affirmer que ces molécules sont vraiment à l'origine de l'efficacité du produit. Pour pouvoir tester cela, il faudra mettre des essais avec des accessions résistantes non traitée comme témoins comme l'ont fait Camañes et al. (2015) pour *Botrytis cinerea* et *Pseudomonas syringae*. Nous pourrions aussi mettre en place des tests de validation de l'implication d'un métabolite dans la résistance par l'approche mQTL (QTL sur les données métabolomiques) et voir s'il y a une coségrégation entre les QTL de résistance et les QTL de quantité de métabolite, ou faire la complémentation fonctionnelle en éteignant l'expression d'un gène de la voie de biosynthèse de ce métabolite (par CRISPR) et voir si cela rend la plante sensible à l'oïdium même si nous appliquons le

produit. Une approche complémentaire serait de mettre en place des tests de toxicité du métabolite vis-à-vis de l'agent pathogène.

La quantité des métabolites du groupe A diminue entre J0 et J3. Une différence a été observée à J3 entre les échantillons inoculés et les échantillons non inoculés que pour le traitement TNT. Cela suggère les produits P4 et P7 miment l'action des agents pathogènes. Cependant, vu qu'à J0 ces métabolites sont toujours produits, cela veut dire que la plante met plus de temps à réagir à ces produits, ou que ces métabolites soient induits uniquement quand la plante est suffisamment attaquée. En effet, pour certains SDP, le processus de défense est réellement activé une fois que la plante est infectée et que cela se fait de manière rapide et intense: ce phénomène est appelé la potentialisation (ou priming) de la plante (Piasentin 2013). Le fait que la plante réagisse rapidement à l'inoculation est qu'à J3 *O. neolycopersici* a déjà infecté quelques cellules de la plante (Lebeda et al. 2014). La variation de la quantité de métabolites synthétisés par la plante est due aux accessions, aux traitements, aux modalités d'inoculation (I ou NI) et enfin à la date de prélèvement des échantillons.

Nous n'avons pas observé d'interactions accessions x traitement. Ces résultats sont conformes aux résultats obtenus sur la vigne par Pagliarani et al. (2020), dans le cadre de l'étude de l'oïdium de la vigne. Le fait que nous n'avons pas observé d'interaction, s'explique par le fait que les algorithmes de machine learning utilisés pour l'analyse n'arrivent facilement à différencier les conditions que lorsqu'il s'agit de faire des comparaisons deux à deux.

Les résultats ont montré que les produits de biocontrôle P4 et P7 confèrent à la tomate une protection contre *O. neolycopersici*. Nous avons montré que leur efficacité varie en fonction du génotype de la plante. Les analyses métabolomiques ont montré que ces produits induisent la production de certains métabolites secondaires et que le génotype de la plante influence cette production de métabolites secondaires à la suite de l'application des SDP.

Conclusion

Nous avons détecté un QTL de résistance à l'oïdium sur le chromosome 9 chez l'accession G21 de l'espèce *S. cheesmaniae*. Nos résultats ont montré que le produit de biocontrôle P7 utilisé en pulvérisation foliaire est le plus efficace pour contrôler l'oïdium de la tomate (plus de 50% de protection) et que son efficacité varie en fonction du génotype de la tomate. Nous avons déterminé un effet génétique de 0,66 pour ce produit. Ce travail nous a permis de mettre en évidence la synthèse *de novo* de métabolites secondaires différemment exprimés entre les échantillons de feuilles de tomate traités et les échantillons non traités. Ces analyses métabolomiques sont des préliminaires et elles seront approfondies pour identifier le ou les métabolite(s) qui sont induits lorsqu'on applique les traitements.

Cela pourrait servir à la sélection d'accessions pour leur réponse suite à l'application de ces produits. Pour confirmer l'effet stimulateur de défense des plantes de ces produits, des analyses transcriptomiques (qPFD) seront réalisées pour identifier les gènes de défense de la tomate qu'ils activent. Pour voir les effets des produits sur les accessions, il faudra faire des comparaisons deux à deux (exemple P7 contre TNT) pour une accession en fixant les autres variables.

Ce stage débouchant sur une thèse, pour la suite, nous allons :1) après la détection de la méthode QTL-seq, génotyper individuellement les plantes F2 avec des marqueurs définis sur le chromosome 9 où nous avons détecté un QTL et sur les chromosomes 3 et 9, 2) cartographier les QTL de résistance à *Botrytis cinerea*, 3) cartographier des locus de réponse aux « SDP » vis-à-vis de l'oïdium, de *Phytophthora infestans* et *B. cinerea* (si on identifie des SDP entraînant une protection significative) et 4) intégrer les données de métabolomique et de transcriptomique (même si ce n'est fait que sur quelques accessions) aux données de cartographie pour identifier des gènes candidats à la réponse des plantes aux SDP.

Références bibliographiques

- Adedayo A.A., Fadiji A.E., et Babalola O.O., 2022. « The Effects of Plant Health Status on the Community Structure and Metabolic Pathways of Rhizosphere Microbial Communities Associated with *Solanum lycopersicum* ». HORTICULTURAE 8 (5). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050404>.
- Bai Y., 2004. « The Genetics and Mechanisms of Resistance to Tomato Powdery Mildew (*Oidium neolycopersici*) in *Lycopersicon* Species ». Thesis Wageningen University, the Netherlands. 103p.
- Bai Y., et Lindhout P., 2007. « Domestication and Breeding of Tomatoes: What Have We Gained and What Can We Gain in the Future? » Annals of Botany 100 (5) : 1085-94. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm150>.
- Bai Y., Christos K., Zhe Y., Richard G. F.V., et Gerard V.D.L., 2018. « Plant Behaviour under Combined Stress: Tomato Responses to Combined Salinity and Pathogen Stress ». The Plant Journal 93 (4) : 781-93. <https://doi.org/10.1111/tpj.13800>.
- Bai Y., Cai-Cheng H., Ron V.D.H., Fien M., Guusje B., et Lindhout P., 2003. « QTL for tomato powdery mildew resistance (*Oidium lycopersici*) in *Lycopersicon parviflorum* G1.1601 co-localize with two qualitative powdery mildew resistance genes. » Molecular Plant-microbe Interactions 16 (2): 169-76. <https://doi.org/10.1094/mpmi.2003.16.2.169>.
- Bai Y., Ron V.D.H., Guusje B., Thierry C.M., Fien M., Rients E.N., et Lindhout P., 2005. « Tomato defense to *Oidium neolycopersici* : dominant OI genes confer isolate-dependent resistance via a different mechanism than recessive OI-2 ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 18 (4) : 354-62. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0354>.
- Bai Y., Stefano P., Zheng Z., Nana F.Z., Anja R., Concetta L., Claudio D.G., et al., 2008. « Naturally Occurring Broad-Spectrum Powdery Mildew Resistance in a Central American Tomato Accession Is Caused by Loss of Mlo Function ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 21 (1): 30-39. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-1-0030>.
- Balint-Kurti P., 2019. « The Plant Hypersensitive Response: Concepts, Control and Consequences ». Molecular Plant Pathology, juillet, mpp.12821. <https://doi.org/10.1111/mpp.12821>.
- Bardin M., Muna E. S., Anne-Marie S., Youssif F.M., et Philippe C.N., 2007. « Inoculum Production and Long-Term Conservation Methods for Cucurbits and Tomato Powdery Mildews ». Mycological Research 111 (6): 740-47. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.015>.
- Benhamou N., et Patrice R., 2012. « Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable.: II. Intérêt des SDN en protection des cultures ». Phytoprotection 92 (1): 24-35. <https://doi.org/10.7202/1013299ar>.
- Binagwa P.H., Traore S.M., Egnin M., Bernard G.C., Ritte I., Mortley D., & Bonsi C., 2021. « Genome-wide identification of powdery mildew resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ». Frontiers in genetics, 12, 673069. Sec. Genomics of Plants and the Phytocoeosystem. Volume 12 - 2021 | <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.673069>.
- Blancard D., Henri L., Georges M., et Thierry C., 2009. « Les maladies de la tomate : identifier, connaître, maîtriser. Versailles »: Éd. Quae.
- Breiman L., 2002. « Manual On Setting Up, Using, And Understanding Random Forests V3.1 ». https://www.stat.berkeley.edu/~breiman/Using_random_forests_V3.1.pdf.
- Bruce T.J.A., 2014. « Variation in plant responsiveness to defense elicitors caused by genotype and environment ». Frontiers in Plant Science 5 (juillet). <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00349>.
- Camañes G., Loredana S., Begonya V., Carmen G., et Pilar G., 2015. « An Untargeted Global Metabolomic Analysis Reveals the Biochemical Changes Underlying Basal Resistance and Priming in *Solanum lycopersicum* and Identifies 1-Methyltryptophan as a Metabolite Involved in Plant Responses to *Botrytis Cinerea* and *Pseudomonas Syringae* ». The Plant Journal 84 (1): 125-39. <https://doi.org/10.1111/tpj.12964>.

- Castro-Moretti F.R., Irene N., Gentzel D.M., et Ana P.A., 2020. « Metabolomics as an Emerging Tool for the Study of Plant–Pathogen Interactions ». *Metabolites* 10 (2) : 52. <https://doi.org/10.3390/metabo10020052>.
- Causse M., Jiantao Z., Isidore D., Jiaojiao W., Veronique L., Bernard C., Michel G., et Nadia B., 2020. « Genomic Designing for Climate-Smart Tomato ». In *Genomic Designing of Climate-Smart Vegetable Crops*, édité par Chittaranjan Kole, 47-159. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-97415-6_2.
- Ciccarese F., Amenduni M., Schiavone D., et Cirulli M., 1998. « Occurrence and Inheritance of Resistance to Powdery Mildew (*Oidium lycopersici*) in *lycopersicon* Species ». *Plant Pathology* 47 (4): 417-19. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1998.00254.x>.
- Faino L., Shiva A., Benyamin H.H., Estelle V., Maria R.E., Richard G.F.V., et Yuling B., 2012. « Fine Mapping of Two Major QTL Conferring Resistance to Powdery Mildew in Tomato ». *Euphytica* 184 (2): 223-34. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0551-6>.
- FAO, 2022. « Agricultural production statistics 2000–2020 ». FAOSTAT Analytical Brief Series No. 41. Rome.
- Fell H., Ajisa M.A., Rachel W., Georgia K.M., Hugh W., Henk-jan S., Bruce D.L.F., Christopher J. R., et Henrik U.S., 2023. « Novel Gene Loci Associated with Susceptibility or Cryptic Quantitative Resistance to *Pyrenopeziza Brassicae* in *Brassica Napus* ». *Theoretical and Applied Genetics* 136 (4): 71. <https://doi.org/10.1007/s00122-023-04243-y>.
- Fletcher J.T., Belinda J.S., et Cook R.T.A., 1988. « Tomato Powdery Mildew ». *Plant Pathology* 37 (4): 594-98. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1988.tb02121.x>.
- https://forgemia.inra.fr/gafl/users/ha_trang_phung/pipeline_QTLseq/-/wikis/Configuration-Settings
- Huang C., 2001. « How Do Plant Species Defend Themselves against *Oidium lycopersici*? : Mapping of Monogenic and Polygenic Resistance in *Lycopersicon* Species ». Wageningen: publisher not identified.
- Huang C., Jeannette B., Pim L., et Rients E.N., 2000. « Host Range of *Oidium lycopersici* Occurring in the Netherlands ». *European Journal of Plant Pathology* 106 (5): 465-73. <https://doi.org/10.1023/A:1008706614291>.
- Illa-Berenguer E., Jason V.H., Zejun H., et Esther V.D.K., 2015. « Rapid and Reliable Identification of Tomato Fruit Weight and Locule Number Loci by QTL-Seq ». *Theoretical and Applied Genetics* 128 (7): 1329-42. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2509-x>.
- Iula G., Begoña M., Youssef R., Luigi L., et Marco T., 2022. « The Complex Metabolomics Crosstalk Triggered by Four Molecular Elicitors in Tomato ». *Plants* 11 (5): 678. <https://doi.org/10.3390/plants11050678>.
- Jacob D., David D.R., Sztjenberg A., et Elad Y., 2008. « Conditions for Development of Powdery Mildew of Tomato Caused by *Oidium neolyopersici* ». *Phytopathology*® 98 (3): 270-81. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-3-0270>.
- Jamiołkowska A., 2020. « Natural Compounds as Elicitors of Plant Resistance Against Diseases and New Biocontrol Strategies ». *Agronomy* 10 (2): 173. <https://doi.org/10.3390/agronomy10020173>.
- Jones H., John M.W., et Sarah J.G., 2001. « The Tomato Powdery Mildew Fungus *Oidium Neolyopersici*: The Tomato Powdery Mildew Fungus *Oidium neolyopersici* ». *Molecular Plant Pathology* 2 (6): 303-9. <https://doi.org/10.1046/j.1464-6722.2001.00084.x>.
- Kim D., Bingkui J., Byoung I.J., Youngmi C., Byung S.K., Hee-Jeong J., Ill-Sup N., et Younghoon P., 2018. « Development of DNA Markers for Slmlo1.1 , a New Mutant Allele of the Powdery Mildew Resistance Gene SIMlo1 in Tomato (*Solanum lycopersicum*) ». Édité par A. Archambault. *Genome* 61 (10): 703-12. <https://doi.org/10.1139/gen-2018-0114>.
- Kiss L., Roger T.A.C., Saenz G.S., James H.C., Susumu T., Ian G.P., Marc B., Philippe C.N., Yukio S., et Amy Y.R., 2001. « Identification of two powdery mildew fungi, *Oidium neolyopersici* sp. nov. and *O. lycopersici*, infecting tomato in different parts of the world ». *Fungal Biology* 105 (6): 684-97. <https://doi.org/10.1017/s0953756201004105>.
- Kole C., éd. 2020. « Genomic Designing of Climate-Smart Vegetable Crops ». Cham: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-97415-6>.

- Lebeda A., Mieslerova B., Petrivalsky M., Luhova L., Spundova M., Sedlarova M., Nozkova-Hlavackova V., et Pink D.A.C., 2014. « Resistance Mechanisms of Wild Tomato Germplasm to Infection of *Oidium neolycopersici* ». *European Journal of Plant Pathology* 138 (3): 569-96. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0307-3>.
- Lebeda A., Mieslerova B., Petrivalsky M., Luhova L., Spundova M., Sedlarova M., Nozkova-Hlavackova V., et Pink D.A.C., 2017. « Review of Tomato Powdery Mildew - a Challenging Problem for Researchers, Breeders and Growers ». In *Palacky University Olomouc, édité par C Argerich, M Camara, et S Colvine*, 1159:107-15. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1159.17>.
- Lecomte M., 2013. « Analyse des mécanismes de défense de la carotte (*Daucus carota*) face au champignon pathogène *Alternaria dauci*, responsable de l'alternariose ou brûlure foliaire ». Thèse Université Nantes Angers Le Mans, Biologie cellulaire et moléculaire végétale. 242p.
- Li C., Guusje B., Daidi C., Lin D., Pim L., Richard G.F.V., et Yuling B., 2007. « Biochemical and molecular mechanisms involved in monogenic resistance responses to tomato powdery mildew ». *Molecular Plant-microbe Interactions* 20 (9): 1161-72. <https://doi.org/10.1094/mpmi-20-9-1161>.
- Li C., Luigi F., Lin D., Junmei F., Levente K., Claudio D.G., Ales L., et al., 2012. « Characterization of Polygenic Resistance to Powdery Mildew in Tomato at Cytological, Biochemical and Gene Expression Level: Quantitative Resistance to Tomato Powdery Mildew ». *Molecular Plant Pathology* 13 (2): 148-59. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00737.x>.
- Lifshitz C., David N., Shalit N., Slotzky S., Tanami Z., Elad Y., & Dai N., 2007. « Inheritance of powdery mildew resistance in strawberry lines from the Israeli germplasm collection ». In *Proc. 2007 N. American Strawberry Symposium*. North American Strawberry Growers Association, Kemptville, ON Canada (pp. 70-74).
- Lin T., Guangtao Z., Junhong Z., Xiangyang X., Qinghui Y., Zheng Z., Zhonghua Z., et al., 2014. « Genomic Analyses Provide Insights into the History of Tomato Breeding ». *Nature Genetics* 46 (11): 1220-26. <https://doi.org/10.1038/ng.3117>.
- Magwene P.M., John H.W., et John K.K., 2011. « The Statistics of Bulk Segregant Analysis Using Next Generation Sequencing ». Édité par Adam Siepel. *PLoS Computational Biology* 7 (11): e1002255. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002255>.
- Mansfeld B.N., et Grumet R., 2018. « QTLseqr: An R Package for Bulk Segregant Analysis with Next-Generation Sequencing ». *The Plant Genome* 11 (2): 180006. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2018.01.0006>.
- Marolleau B., Staub J., Barrière Q., Indiana A., Gravouil C., Chartier R., Heintz C., et al., 2013. « La qPFD, un outil de criblage des SDP alias stimulateurs de défense des plantes », 2013, PHYTOMA édition, sect. N° 664.
- Miedaner T., Viktor K., et Peer W., 2022. « Effective Pollen-Fertility Restoration Is the Basis of Hybrid Rye Production and Ergot Mitigation ». *Plants* 11 (9): 1115. <https://doi.org/10.3390/plants11091115>.
- Molitor A., Doreen Z., Lars M.V., Jörn P., Birgit S., Karl-Heinz K., et Frank W., 2011. « Barley Leaf Transcriptome and Metabolite Analysis Reveals New Aspects of Compatibility and *Piriformospora indica* –Mediated Systemic Induced Resistance to Powdery Mildew ». *Molecular Plant-Microbe Interactions*® 24 (12): 1427-39. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-11-0177>.
- Netpakdee C., Sittiwut M., Arthit S., Sompong C., Tidarat M., Siwaret A., et Jirawat S., 2022. « QTL-Seq Approach Identified Pi63 Conferring Blast Resistance at the Seedling and Tilling Stages of Thai Indigenous Rice Variety “Phaladum” ». *Agriculture* 12 (8): 1166. <https://doi.org/10.3390/agriculture12081166>.
- Pagliarani C., Amedeo M., Walter C., Giovanna R.M., Simona A., Luca N., Massimo P., Maria L.G., et Giorgio G., 2020. « The Molecular Priming of Defense Responses Is Differently Regulated in Grapevine Genotypes Following Elicitor Application against Powdery Mildew ». *International Journal of Molecular Sciences* 21 (18): 6776. <https://doi.org/10.3390/ijms21186776>.
- Park J., Siyoung L., Yunseo C., Girim P., Seoyeon P., Byoungil J., et Younghoon P., 2022. « Germplasm Screening Using DNA Markers and Genome-Wide Association Study for the Identification of Powdery Mildew

- Resistance Loci in Tomato ». *International Journal of Molecular Sciences* 23 (21): 13610. <https://doi.org/10.3390/ijms232113610>.
- Park M., Joung-Ho L., Koeun H., Siyoung J., Jiwoong H., Jung-Hyun L., Ji-Won J., et Byoung-Cheorl K., 2019. « A Major QTL and Candidate Genes for Capsaicinoid Biosynthesis in the Pericarp of *Capsicum chinense* Revealed Using QTL-Seq and RNA-Seq ». *Theoretical and Applied Genetics* 132 (2): 515-29. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3238-8>.
- Pawlowski M.L., Charles R.B., Curtis B.H., et Glen L.H., 2016. « Responses of Soybean Genotypes to Pathogen Infection after the Application of Elicitors ». *Crop Protection* 87 (septembre): 78-84. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.04.022>.
- Piasentin J., 2013. « Stimulation des mécanismes de défense naturelle des plantes ». *Terres d'innovation-iteipmai*.
- Qinggui L., Xinyi H., Bingbing Z., Yang W., et Qing M., 2022. « Identification and Characterization of WRKY41, a Gene Conferring Resistance to Powdery Mildew in Wild Tomato (*Solanum habrochaites*) LA1777 ». *International Journal of Molecular Sciences* 23 (3): 1267-1267. <https://doi.org/10.3390/ijms23031267>.
- R Core Team, 2022. « R: A language and environment for statistical computing ». R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rohart F., Gautier B., Singh A., and Le C.K.A., 2017. « mixOmics: An R package for 'omics feature selection and multiple data integration ». *PLoS computational biology* 13(11): e1005752. <http://www.mixOmics.org>.
- Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T., Cardona A., 2012. « Fiji: an open-source platform for biological-image analysis ». *Nature Methods*, 9(7), 676–682. doi:10.1038/nmeth.2019.
- Seifi A., Teruo N., Yoshinori M., Hideyoshi T., et Yuling B., 2012. « An avirulent tomato powdery mildew isolate induces localized acquired resistance to a virulent isolate in a spatiotemporal manner ». *Molecular Plant-microbe Interactions* 25 (3): 372-78. <https://doi.org/10.1094/mpmi-06-11-0171>.
- Seifi A., Dongli G., Zheng Z., Stefano P., Luigi F., Richard G.F.V., Anne-Marie A.W., et Yuling B., 2014. « Genetics and Molecular Mechanisms of Resistance to Powdery Mildews in Tomato (*Solanum lycopersicum*) and Its Wild Relatives ». *European Journal of Plant Pathology* 138 (3): 641-65. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0314-4>.
- Sun G., Chanjing F., Jia G., Ancheng Z., Yuanliu X., Yang W., Brad D., et Qing M., 2019. « The Tomato Arp2/3 Complex Is Required for Resistance to the Powdery Mildew Fungus *Oidium neolyopersici* ». *Plant, Cell & Environment* 42 (9): 2664-80. <https://doi.org/10.1111/pce.13569>.
- Takagi H., Akira A., Kentaro Y., Shunichi K., Satoshi N., Chikako M., Aiko U., et al., 2013. « QTL-Seq: Rapid Mapping of Quantitative Trait Loci in Rice by Whole Genome Resequencing of DNA from Two Bulk Populations ». *The Plant Journal* 74 (1): 174-83. <https://doi.org/10.1111/tpj.12105>.
- Taoutaou A., 2021. « La Résistance des Plantes aux Agents Phytopathogènes ».
- Thakur A., Shalini V., Vedukola P.R., et Deepika S., 2019. « Hypersensitive Responses in Plants ». *Agricultural Reviews*, no of (août). <https://doi.org/10.18805/ag.R-1858>.
- Turc E., Pressecq T., Nicot P.C., Bardin M., 2022. « Modes of Action of Microbial Biocontrol Agents against Plant Diseases. Microbial Biocontrol Agents: Developing Effective Biopesticides ». <https://doi.org/10.1079/9781789249200.0003>.
- Underwood W., Christopher G.M., Charles B., Thomas J.G., Zahirul T., Brent S.H., et Samuel G.M., 2021. « A Greenhouse Method to Evaluate Sunflower Quantitative Resistance to Basal Stalk Rot Caused by *Sclerotinia Sclerotiorum* ». *Plant Disease* 105 (2): 464-72. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-19-1790-RE>.
- Yang L., Jingguo W., Zhenghong H., Lei L., Hua L.L., Hongliang Z., Wei X., et Detang Z., 2021. « Combining QTL-Seq and Linkage Mapping to Fine Map a Candidate Gene in QCTS6 for Cold Tolerance at the Seedling Stage in Rice ». *BMC Plant Biology* 21 (1): 278. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03076-5>.
- Zhang X., Kang Z., Jian W., Ning G., Jianli L., Xiaowu W., et Feng C., 2020. « QTL-Seq and Sequence Assembly Rapidly Mapped the Gene BrMYBL2.1 for the Purple Trait in *Brassica Rapa* ». *Scientific Reports* 10 (1): 2328. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58916-5>.

Zheng Z., Michela A., Stefano P., Valentina B., Luigi R., Richard G F.V., Anne-Marie A.W., et Yuling B., 2016.
« Genome-Wide Study of the Tomato SIMLO Gene Family and Its Functional Characterization in Response to the Powdery Mildew Fungus *Oidium neolycopersici* ». *Frontiers in Plant Science* 7 (avril).
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00380>.

Contribution au travail

Tout d'abord, je tiens à souligner qu'à l'exception des analyses de données, presque toutes les activités que j'ai réalisées étaient des activités menées en équipe de deux ou plusieurs personnes.

Pour les analyses transcriptomiques (qPFD) et métabolomiques, j'ai participé au phénotypage (compter le nombre de taches par feuille) des deux derniers essais et au prélèvement des feuilles pour les analyses. Pour l'analyse qPFD, j'ai réalisé en binôme l'extraction d'ARN. J'ai eu aussi à faire les analyses des données phénotypiques et moléculaires des essais de la métabolomique. Au début de mon stage, j'ai eu à disposition les données des 5 premiers tunnels pour le calcul des effets génétiques de la réponse des plantes aux produits de biocontrôle. J'ai participé à la mise en place du dernier tunnel (T6), depuis la mise en pot jusqu'au phénotypage. J'ai également fait l'analyse d'image avec le logiciel FIJI des feuilles du tunnel T6. J'ai eu aussi à faire l'analyse des données de ces tunnels (sauf T3 car nous n'avons pas utilisé les données de ce tunnel). J'ai aussi participé à toutes les étapes de l'expérimentation mise en place pour la cartographie des locus de résistance à l'oïdium depuis la mise en pot jusqu'à l'extraction des ADN, en participant à la sélection des génotypes à garder pour la formation des bulks. Après séquençage des bulks et des parents, j'ai réalisé l'analyse QTL-seq pour la détection des QTL. En dehors de ces activités liées directement à mon stage, j'ai eu à réaliser d'autres activités en parallèle, telles que l'analyse des données collectées sur le mildiou de la tomate, la mise en place d'un essai pour le génotypage de trois populations de tomate pour identifier les accessions ayant des gènes de résistances différents de ceux déjà cartographiés afin de faire la cartographie des locus de résistance à l'oïdium de ces accessions.

Annexes

Liste des annexes

Annexe i : Echelle de notation des plantes dans les 3 tunnels.....	59
Annexe ii : Protocole d'extraction d'ADN avec le kit Qiagen.....	62
Annexe iii : Méthodes de purification des ADN.....	64
Annexe iv : Résultats des 6 produits de biocontrôles ayant une efficacité significative (30 -80 % de protection) après les tests d'efficacité de 7 produits de biocontrôle candidats	65
Annexe v : Résultats de l'essai mis en place pour évaluer la sensibilité des accessions de tomate	66
Annexe vi : Carte génétique des résistances trouvée chez la tomate (Bai et al, 2018).	67
Annexe vii : QTL de résistance à l'oïdium de la tomate (Park et al. 2022).	68

Annexe i : Echelle de notation des plantes dans les 3 tunnels

Les notations se feront à 3 niveaux :

Niveau 1 : A l'échelle de la plante entière

- 0 : Aucune tache sur la plante
- 1 : Quelques taches
- 2 : Plante fortement attaquée

Niveau 2 : Notation sur 2 feuilles

- 0 : Pas attaque



- 1 : Toutes les folioles sont attaquées



- 2 : Toutes les folioles sont attaquées avec des nécroses





- 3 : Toutes les folioles sont attaquées avec des sporulations



Niveau 3: présence ou pas de nécrose

0: Nécrose

1: Pas de nécrose

Pour déterminer la note finale de la plante, nous avons fait la somme de toutes les notes (Note plante entière + Note feuille1 + Note feuille2 + Note niveau 3).

Quick-Start Protocol

April 2021

DNeasy[®] 96 Plant Kit

The DNeasy 96 Plant Kit (cat. no. 69181) can be stored at room temperature (15–25°C) for up to 1 year.

Further information

- *DNeasy Plant Handbook*: www.qiagen.com/HB-1166
- *TissueLyser Handbook*: www.qiagen.com/HB-0487
- Safety Data Sheets: www.qiagen.com/safety
- Technical assistance: support.qiagen.com

Notes before starting

- If necessary, redissolve any precipitates in Buffer AP1 and Buffer AW1 concentrates.
- Add ethanol to Buffer AW1 and Buffer AW2 concentrates.
- Preheat Buffer AP1 to 65°C.
- Prepare a fresh working lysis solution: For 2 x 96 samples, combine 90 ml Buffer AP1, 225 µl RNase A, and 225 µl Reagent DX.

Procedure

1. Place up to 50 mg leaves into each tube in 2 collection microtube racks.
2. Add 1 tungsten carbide bead to each collection microtube.
3. Pipet 400 µl working lysis solution into each collection microtube. Tightly seal the microtubes using the caps provided.
4. Assemble each rack of collection microtubes into the TissueLyser.
5. Grind the sample for 1.5 minutes at 30 Hz.
6. Reassemble the racks so that the collection microtubes nearest the TissueLyser in steps 4 and 5 are now furthest from the TissueLyser.
7. Grind the samples for another 1.5 min at 30 Hz.

— Sample to Insight —



-
8. Centrifuge to collect any solution from the caps.
 9. Add 130 μ l Buffer P3 to each collection microtube and reseal using new caps.
 10. Place a clear cover over each rack and shake vigorously up and down for 15 s.
Centrifuge to collect any solution from the caps.
 11. Incubate the collection-microtube racks for 10 min at -20°C .
 12. Centrifuge the collection-microtube racks for 5 min at $5788 \times g$ (6000 rpm).
 13. Transfer 400 μ l of each supernatant to a new collection microtube.
 14. Add 600 μ l of Buffer AW1 to each sample. Close microtubes with new caps.
 15. Place a clear cover over each rack and shake vigorously up and down for 15 s.
Centrifuge to collect any solution from the caps.
 16. Place 2 DNeasy 96 plates on top of S-Blocks. Mark the DNeasy 96 plates for later sample identification.
 17. Transfer 1 ml of each sample to each well of the DNeasy 96 plates.
 18. Seal each DNeasy 96 plate with an AirPore Tape Sheet. Centrifuge for 4 min at $5788 \times g$.
If lysate remains in the DNeasy 96 plates after centrifugation, centrifuge for another 4 min.
 19. Remove the AirPore Tape Sheet. Add 800 μ l Buffer AW2 to each sample.
 20. Centrifuge for 15 min at $5788 \times g$ without AirPore Tape Sheet to dry the membranes.
 21. Place each DNeasy 96 plate on a new Elution Microtubes RS rack.
 22. Add 100 μ l Buffer AE and seal with new AirPore Tape Sheets. Incubate for 1 min at room temperature ($15\text{--}25^{\circ}\text{C}$). Centrifuge for 2 min at $5788 \times g$.
 23. Repeat step 22. Seal the Elution Microtubes RS with new caps to store DNA.

Document Revision History

Date	Changes
04/2021	Changed speed condition " $3800 \times g$ " to " $5788 \times g$ ". Revised the "Notes before starting" section.

For up-to-date licensing information and product-specific disclaimers, see the respective QIAGEN kit handbook or user manual.

Trademarks: QIAGEN[®], Sample to Insight[®], DNeasy[®] (QIAGEN Group). Registered names, trademarks, etc. used in this document, even when not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law. 1123238 04/2021 HB-0544-003 © 2021 QIAGEN, all rights reserved.

Ordering www.qiagen.com/shop | Technical Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com

Nous avons utilisé ce protocole en apportant quelques modifications au niveau des temps de centrifugation.

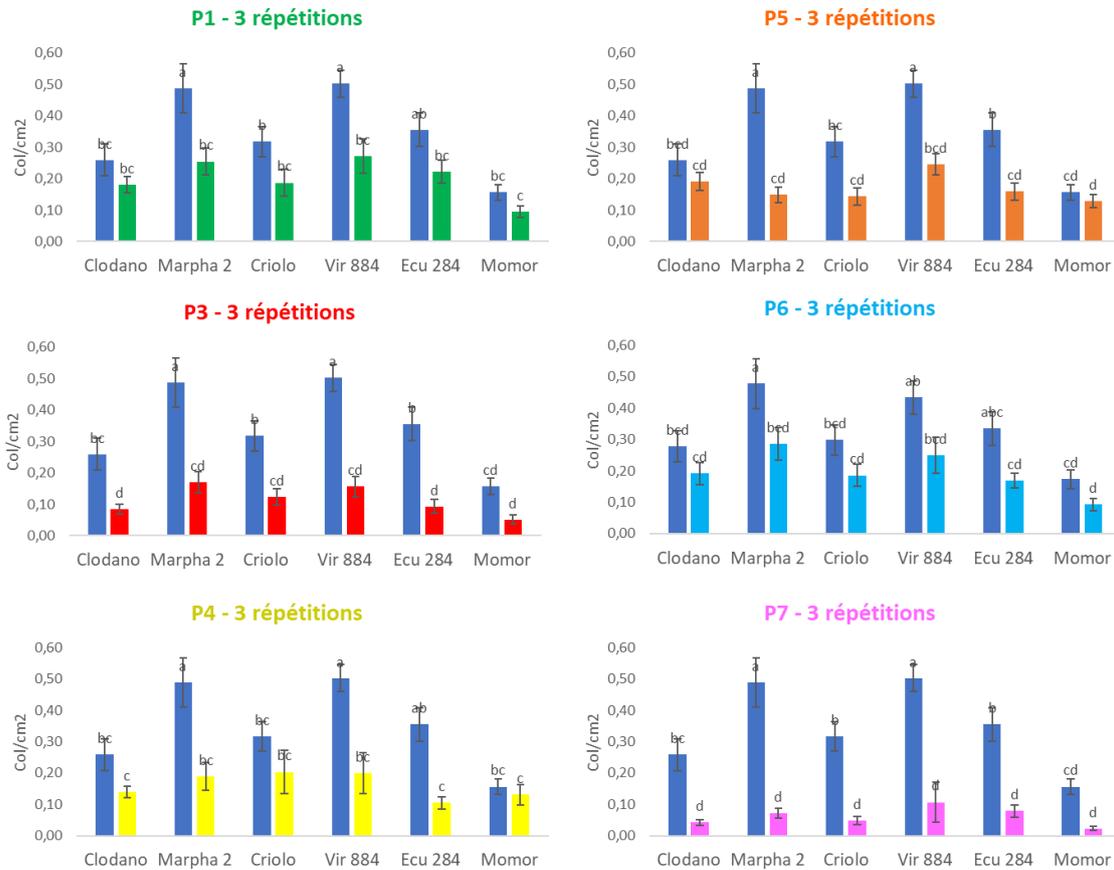
A) Méthode Qiagen

- 1) Ajouter le tampon AW1 à 2 fois le volume d'ADN. Déposer le mélange sur la colonne de silice
- 2) Centrifuger pendant 5-10 min à 6000 g
- 3) Sur la colonne, ajouter 600 µl du tampon de lavage AW2
- 4) Centrifuger pendant 5 min à 6000 g
- 5) Répéter le lavage une deuxième fois
- 6) Transférer la colonne sur un tube sec et centrifuger à 6000 g pendant 15 minutes afin d'éliminer complètement tout le tampon de lavage
- 7) Placer la colonne sur un tube neuf. Ajouter 50 à 100 µl de tampon EB chaud (à 65°C) sur la colonne.
- 8) Incuber 5 minutes et centrifuger 5 mn à 6000 g pour récupérer l'ADN élué.

A) Méthode de purification à l'acétate de sodium

- 1) Ajouter 1/10^{ème} de volume d'acétate de sodium 3M à 1 volume d'ADN
- 2) Ajouter 2 volumes d'éthanol 100 % (éthanol absolute)
- 3) Mettre à -20°C pendant environ 10 min
- 4) Centrifuger à 15000 g pendant 10 min
- 5) Jeter le surnageant et ajouter 1 ml d'éthanol 70% sur le culot
- 6) Centrifuger et jeter le surnageant
- 7) Sécher le culot
- 8) Ré-suspendre le culot dans le volume désiré de TE 10 :1

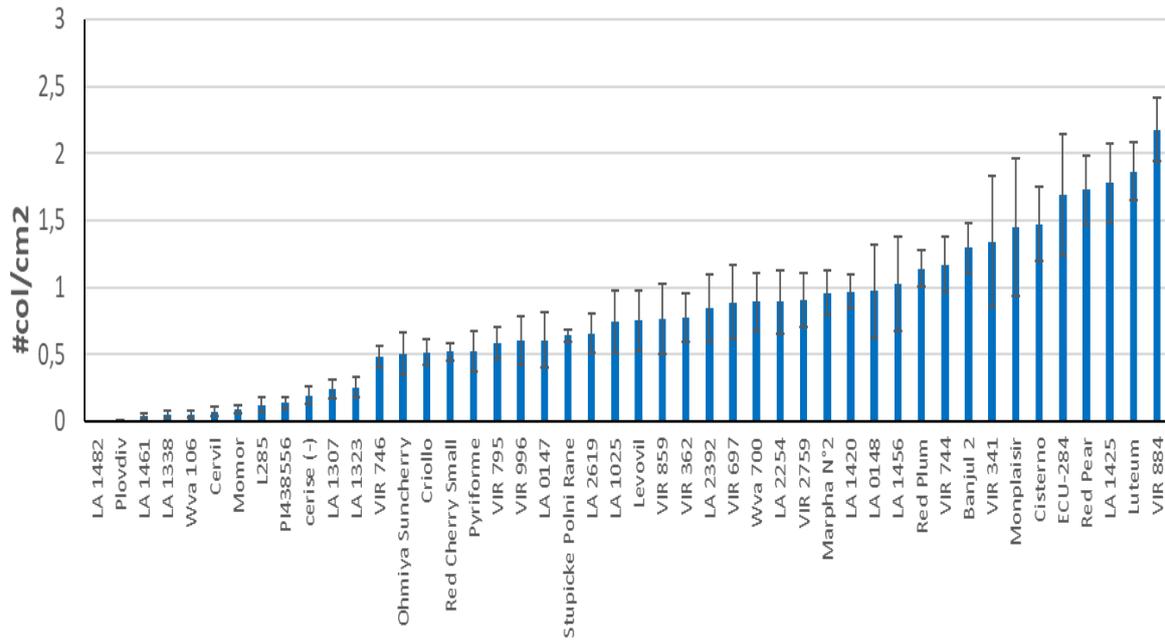
Annexe iv : Résultats des 6 produits de biocontrôle ayant une efficacité significative (30 -80 % de protection) après les tests d'efficacité de 7 produits de biocontrôle candidats



Ces graphes sont les résultats des analyses faites antérieurement à mon stage. L'axe des abscisses se trouve les accessions. L'axe des ordonnées le nombre de colonie par cm². Les lettres sont les groupes formés après les tests de comparaison multiple.

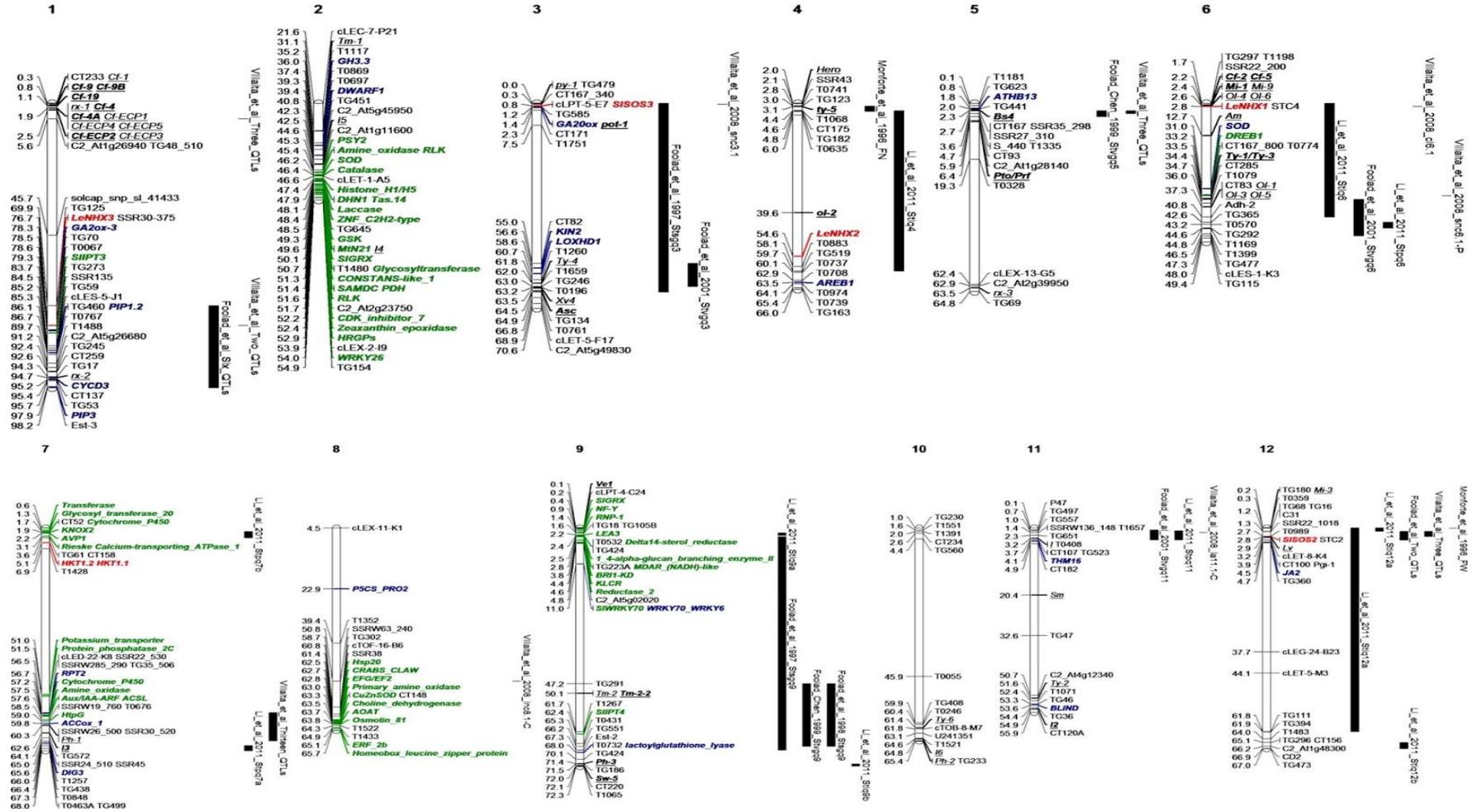
Les barres bleues sont les nombres moyens de colonie par cm² des accessions en condition control.

Annexe v : Résultats de l'essai mis en place pour évaluer la sensibilité des accessions de tomate

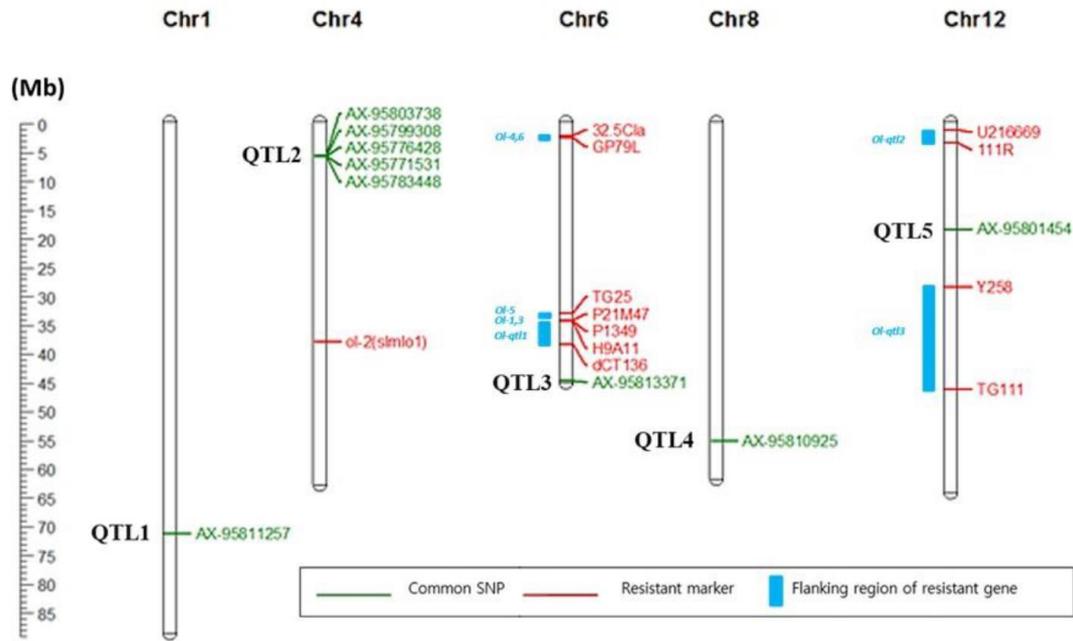


Ces graphes sont les résultats des analyses faites antérieurement à mon stage. L'axe des abscisses se trouve les accessions. L'axe des ordonnées le nombre de colonie par cm².

Annexe vi : Carte génétique des résistances trouvée chez la tomate (Bai et al, 2018).



Annexe vii : QTL de résistance à l'oidium de la tomate (Park et al. 2022).



Résumé

La tomate est le légume le plus consommé au monde. Elle est sensible à plusieurs maladies telles que l'oïdium et le mildiou. L'oïdium de la tomate est une maladie foliaire principalement causée par le champignon *Oidium neolycopersici*. L'objectif de ce travail est d'étudier la combinaison de deux leviers immunitaires (résistance génétique et stimulation des défenses de la plante) chez la tomate pour le contrôle de l'oïdium. Cette étude a porté sur trois axes : (1) la cartographie des régions génomiques de la tomate impliquées dans la résistance génétique de l'accession G21, (2) l'évaluation de la part de la génétique de la plante dans l'efficacité de produits de biocontrôle et (3) l'étude du mode d'action de ces produits de biocontrôle, par des approches biologiques, transcriptomiques et métabolomiques. Concernant la résistance génétique, un QTL (quantitative trait locus) de résistance à l'oïdium a été détecté sur le chromosome 9 de la tomate. Les analyses phénotypiques ont montré que les produits P4 et P7 ont des efficacités protectrices vis-à-vis de l'oïdium de 18% et 68%, respectivement et que la variation de l'efficacité de ces deux produits est en partie due à l'effet génétique (pour P4 : $H^2 = 64\%$ et pour P7 : $H^2 = 66\%$). Les analyses métabolomiques ont montré que les deux produits ont un effet sur la synthèse de métabolites secondaires dans les feuilles de la plante. En conclusion, le produit P7 est plus efficace contre *O. neolycopersici*, avec une héritabilité de 66% et induit la synthèse de métabolites secondaires par la plante. Dans la suite des travaux une approche transcriptomique sera utilisée pour identifier les gènes de défense qui sont induits par ces produits et de faire la cartographie génétique des régions génomiques impliquées dans la réponse des plantes à l'application des produits de biocontrôle.

Mots clés : Oïdium de la tomate, *Oidium neolycopersici*, QTL, stimulateurs de défense des plantes, métabolites secondaires.