

# Estimating the frequency of virulence in *Zymoseptoria tritici* populations by combining bulk phenotyping and molecular approaches

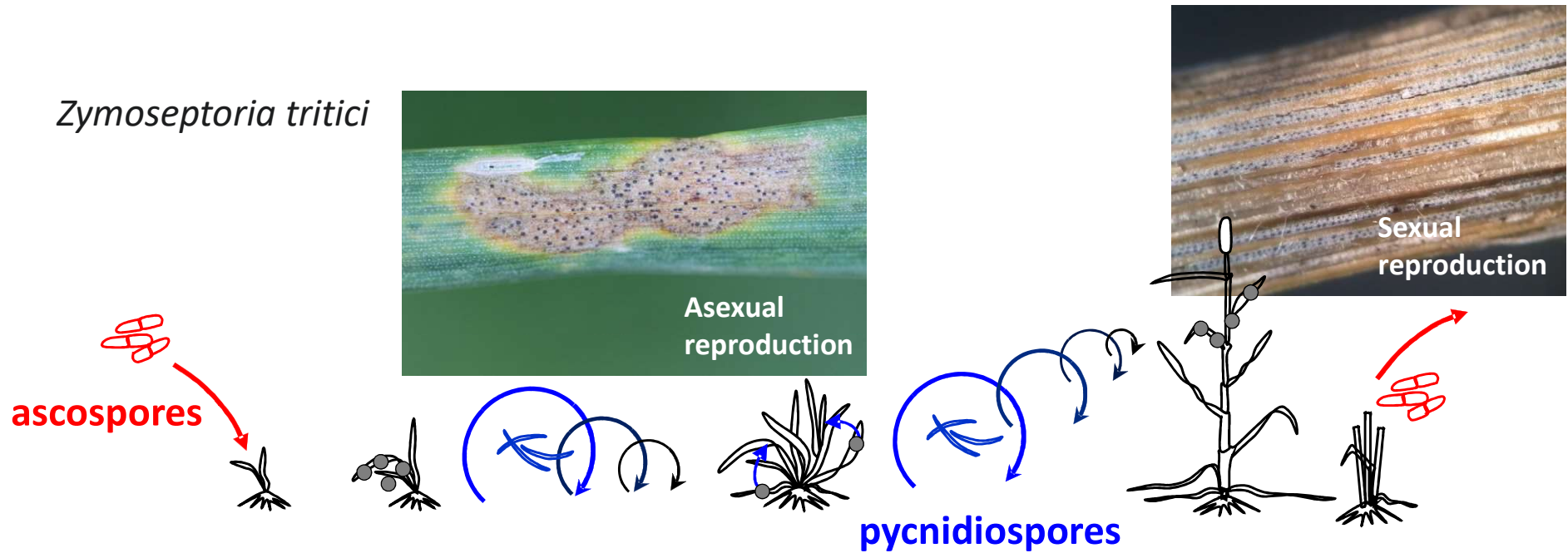


Frédéric Suffert  
Younès Amara  
Stéphanie Le Prieur  
Alicia Noly  
Sandrine Gélisse  
Emmie Dzialo  
Cyrille Saintenac  
Thierry C. Marcel



**INRAE**  
Versailles-Saclay

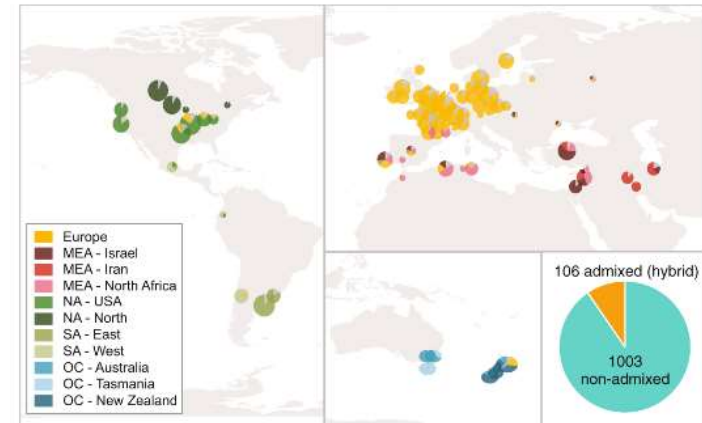
# Characteristics of Septoria tritici blotch epidemics



- Development driven by asexual & sexual reproduction
- Huge size of population and genetic diversity
- Qualitative *Stb* R genes +/- rapidly broken down (= emergence and increase of virulent strains in frequency)

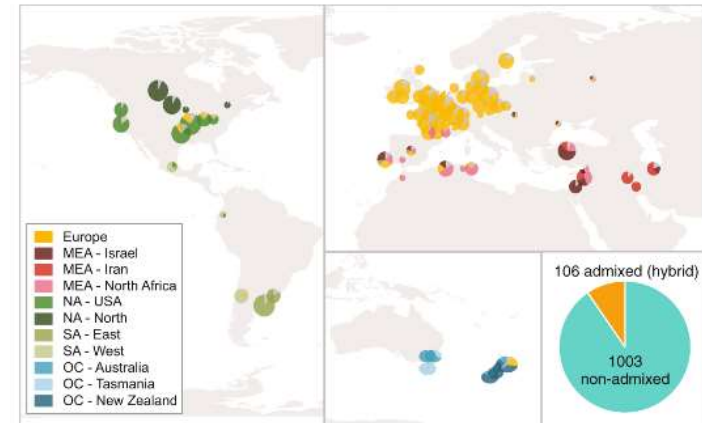
## Recent highlights

- **Evolutionary trajectory of *Z. tritici* populations from local to global scales (Feurtey et al., 2023)**

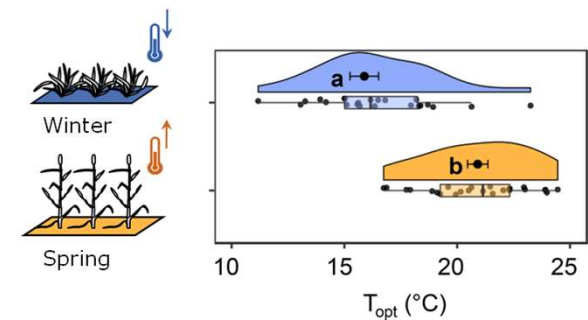


## Recent highlights

- **Evolutionary trajectory** of *Z. tritici* populations from local to global scales (Feurtey et al., 2023)

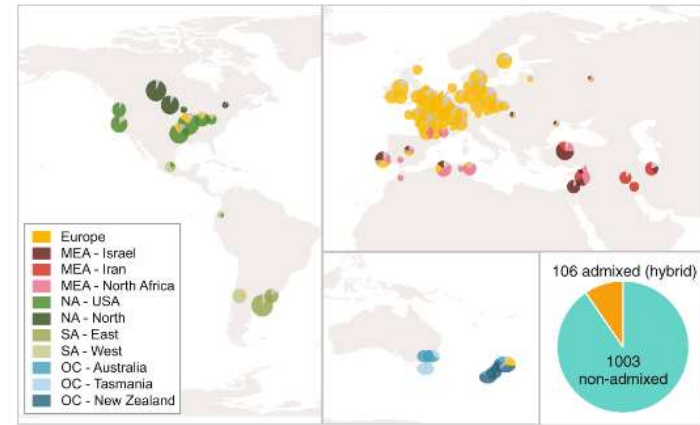


- **Adaptation to selective pressures**, e.g. fungicides, *Stb* genes and temperature (Suffert et al., 2015; Boixel et al. 2022)

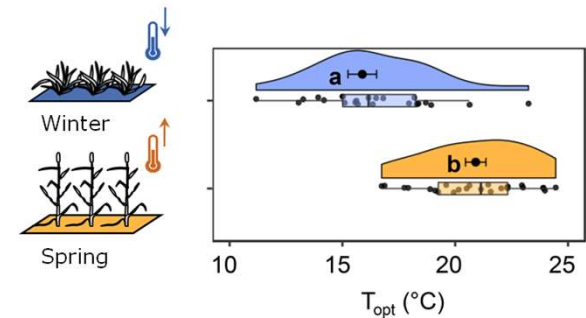


# Recent highlights

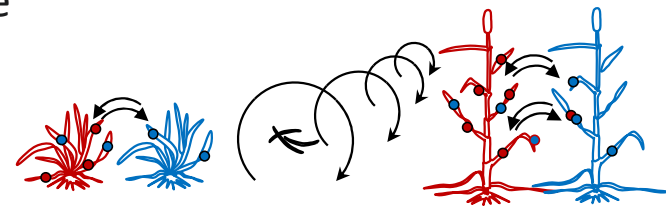
- **Evolutionary trajectory of *Z. tritici* populations** from local to global scales (Feurtey et al., 2023)



- **Adaptation to selective pressures, e.g. fungicides, *Stb* genes and temperature** (Suffert et al., 2015; Boixel et al. 2022)

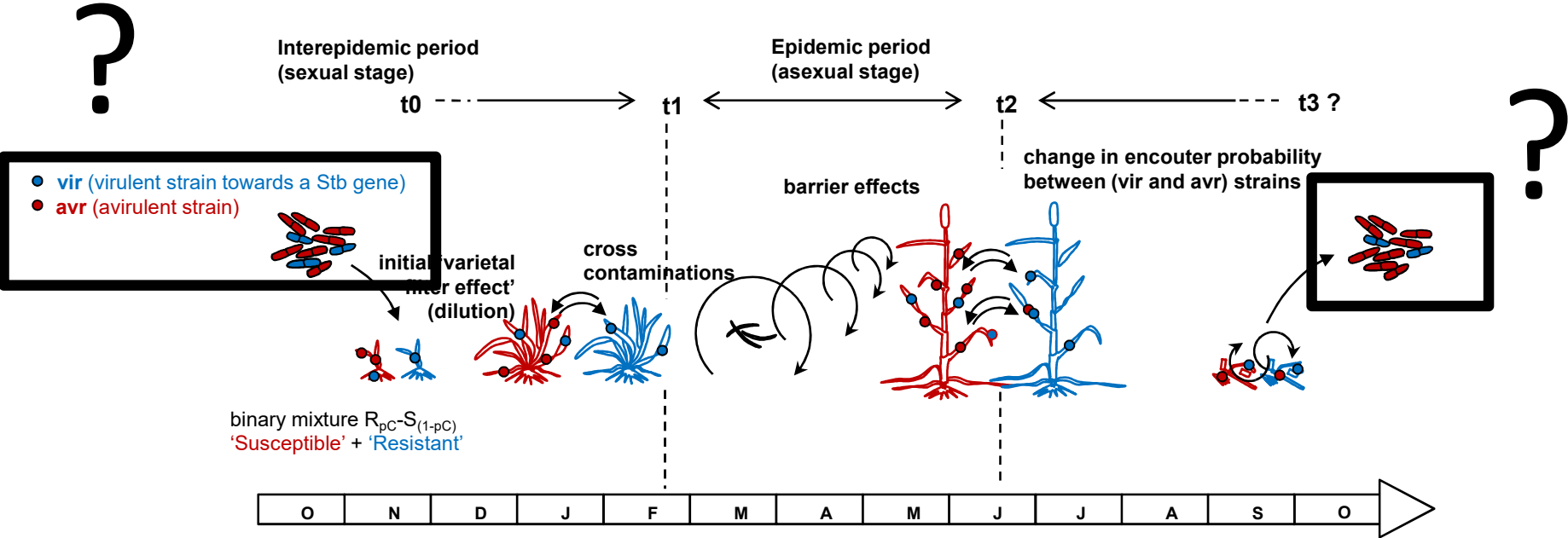


- **Epidemiological processes in varietal mixture:** to be exploited to improve efficacy and durability of *Stb* genes (Orellana-Torrejon et al., 2022)



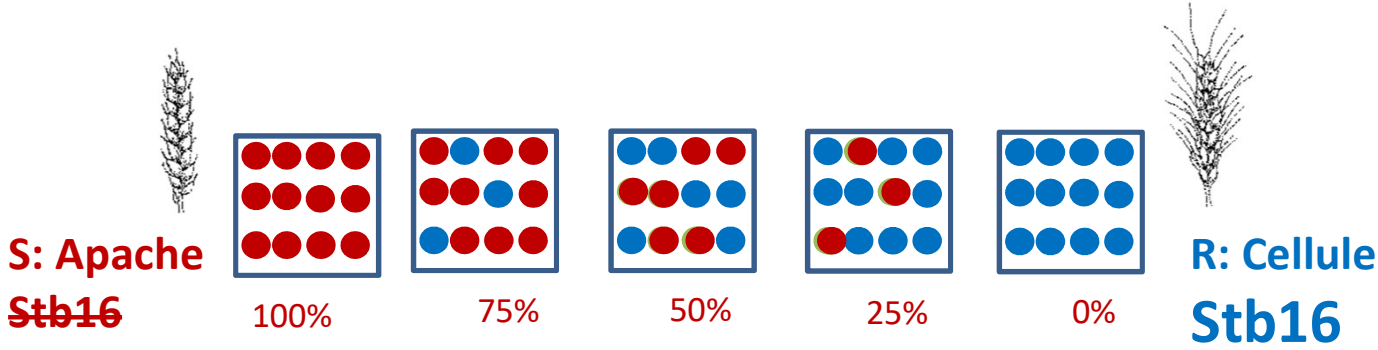
# Do cultivar mixtures drive evolution of *Z. tritici* population (proportion of vir strains) ?

Case study *Stb16q*



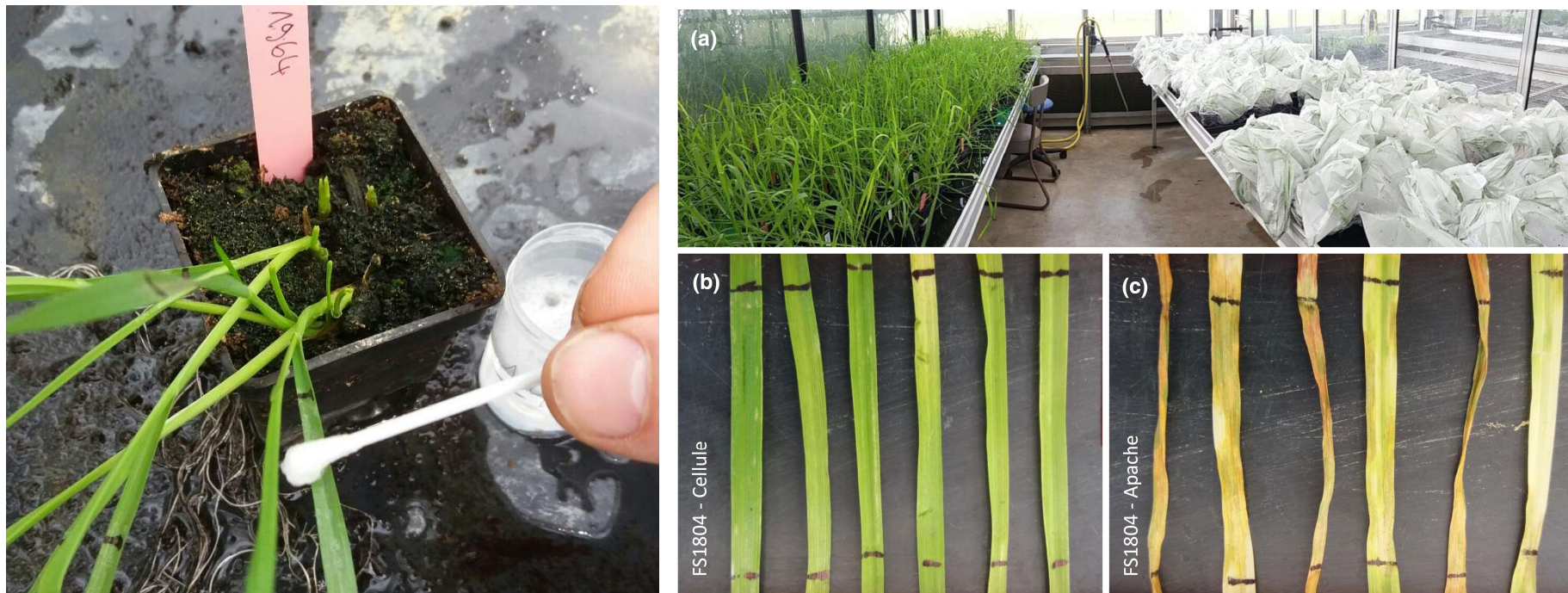
# Do cultivar mixtures drive evolution of *Z. tritici* population (proportion of vir strains) ?

Case study *Stb16q*



# Do cultivar mixtures drive evolution of *Z. tritici* population (proportion of vir strains) ?

Case study *Stb16q*



Orellana-Torrejon et al. 2022

Strain-by-strain phenotyping (vir/avr): **n > 4500!**





Interepidemic period  
(sexual stage)

Epidemic period  
(asexual stage)

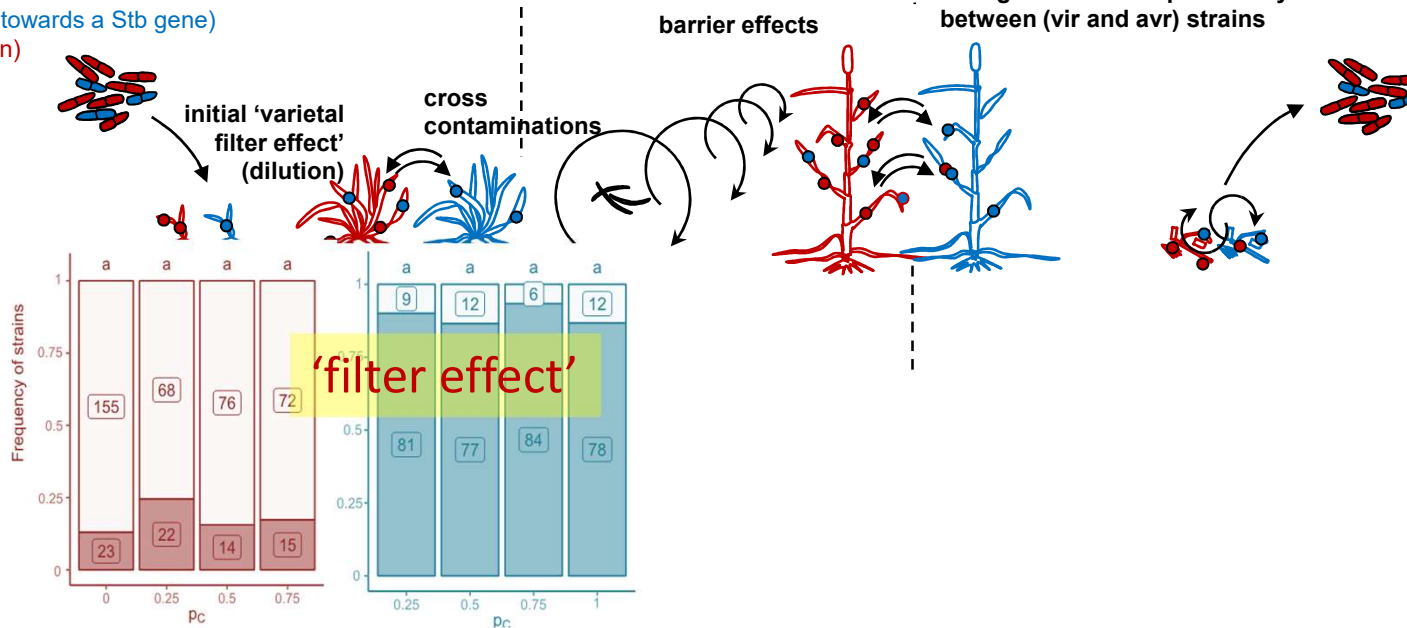
t0

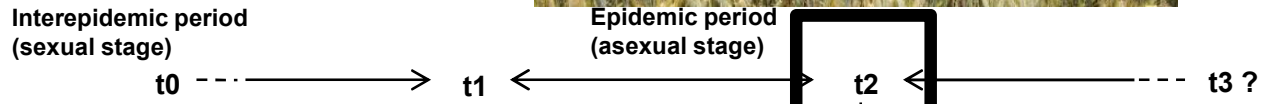
t1

t2

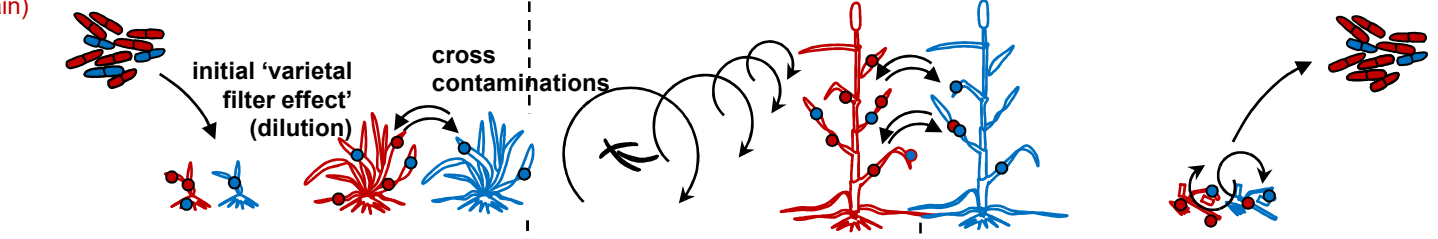
t3 ?

- **vir** (virulent strain towards a Stb gene)
- **avr** (avirulent strain)

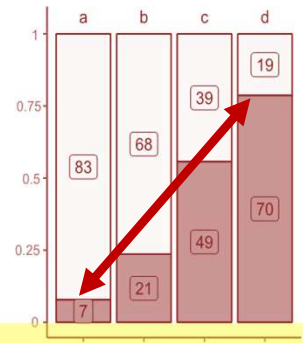




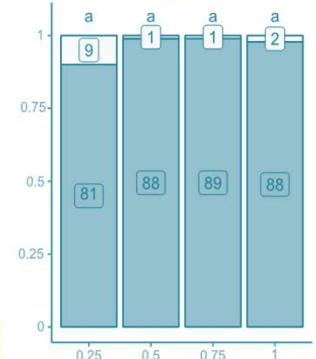
- **vir** (virulent strain towards a Stb gene)
- **avr** (avirulent strain)



binary mixture  $R_{pC}S_{(1-pC)}$   
'Susceptible' + 'Resistant'



'barrier' effect





Interepidemic period  
(sexual stage)

Epidemic period  
(asexual stage)

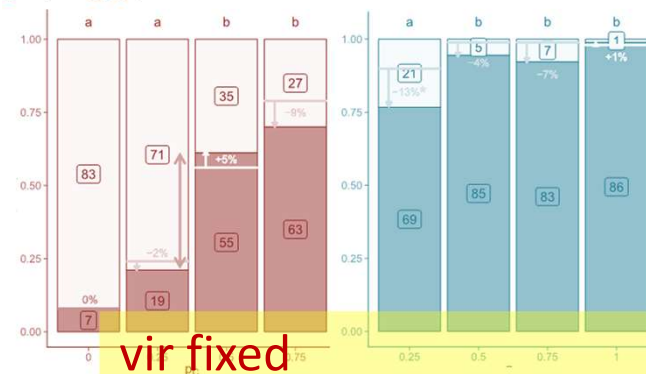
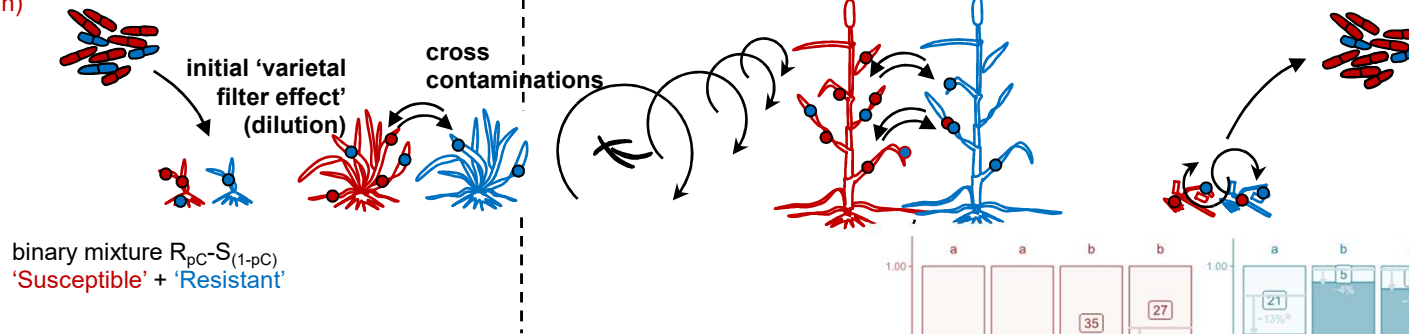
t0

t1

t2

t3 ?

- vir (virulent strain towards a Stb gene)
- avr (avirulent strain)

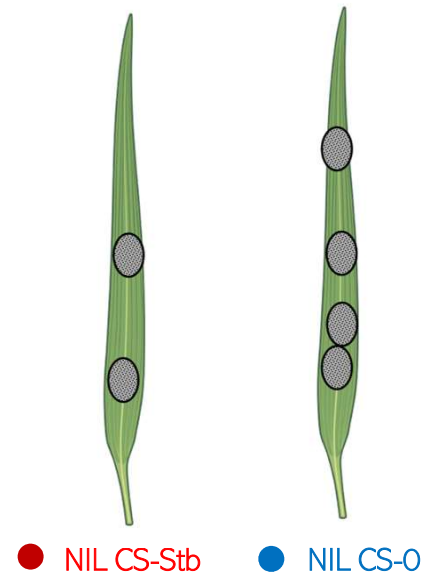
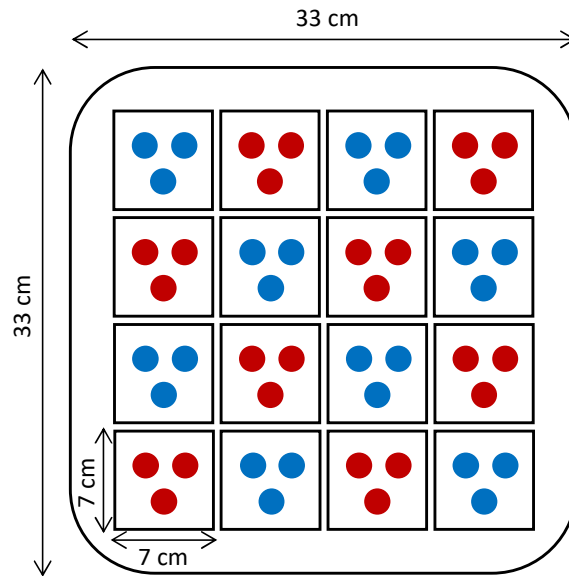
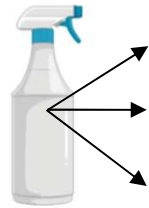


vir fixed  
due to sexual reproduction

Comment « mieux » estimer la fréquence de souches virulentes ?

# (1) Phénotypage en bulk

Population  
(mélange de souches vir / avr  
vis-à-vis d'un gène *Stb*)



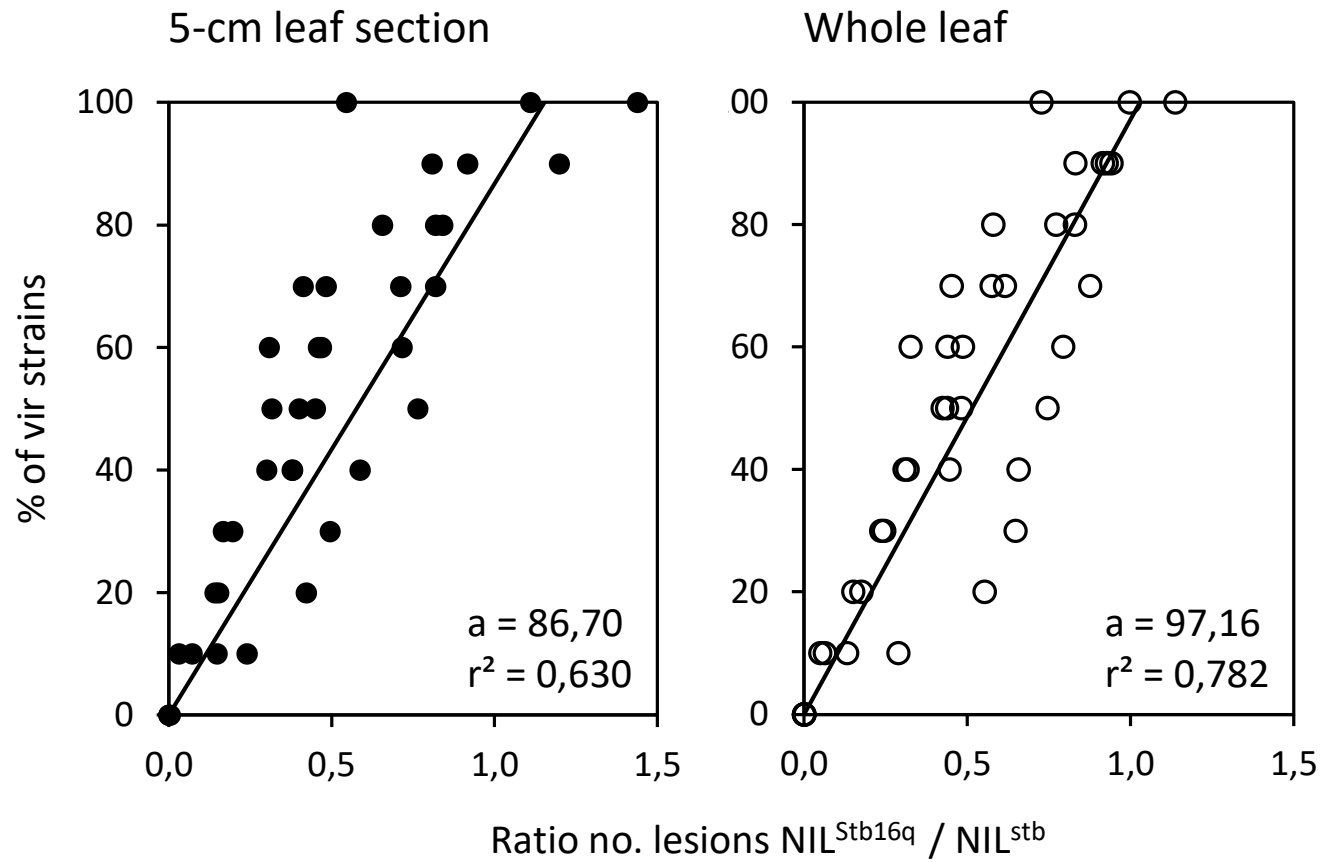
Ratio du nombre de  
lésions sporulantes



# Stb16q

1 avr + 1 vir

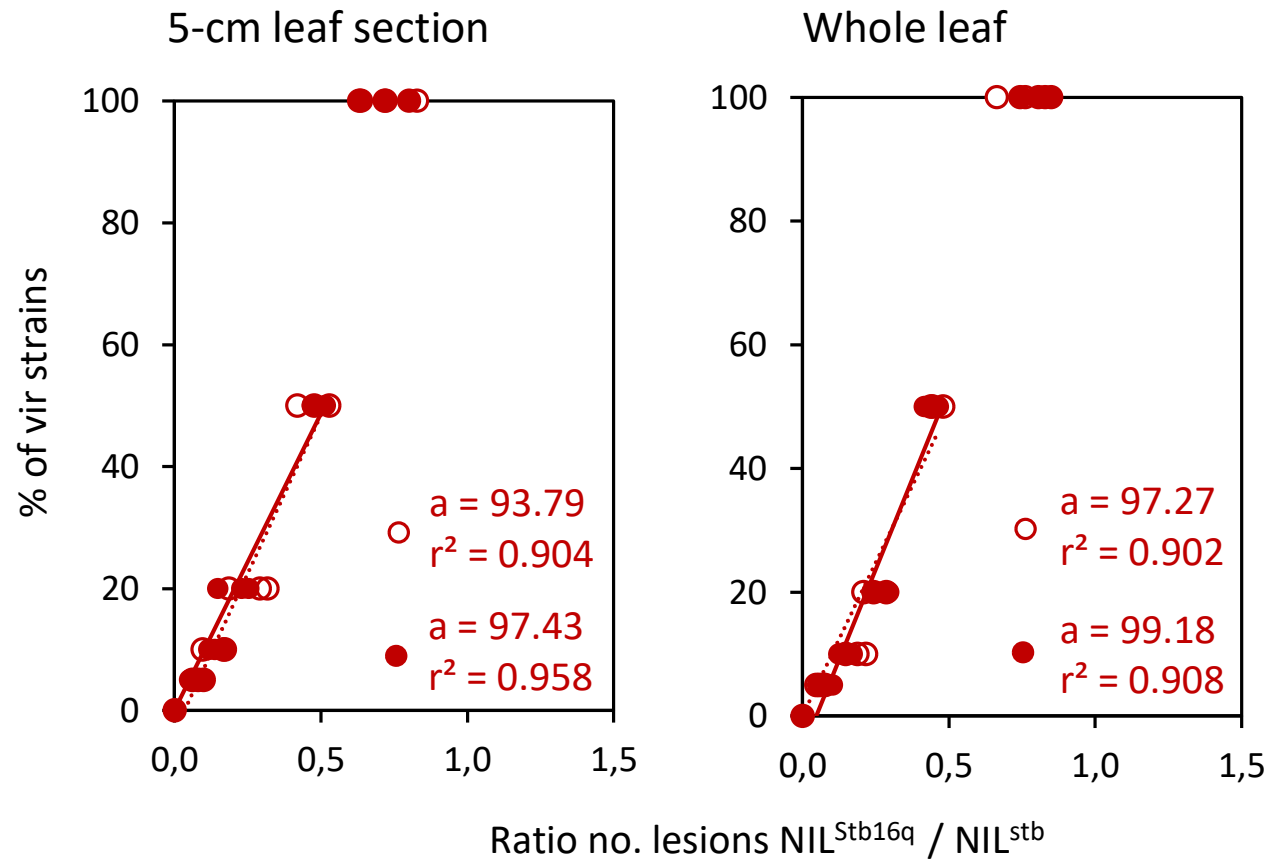
10 proportions



# Stb16q

10 avr + 10 vir

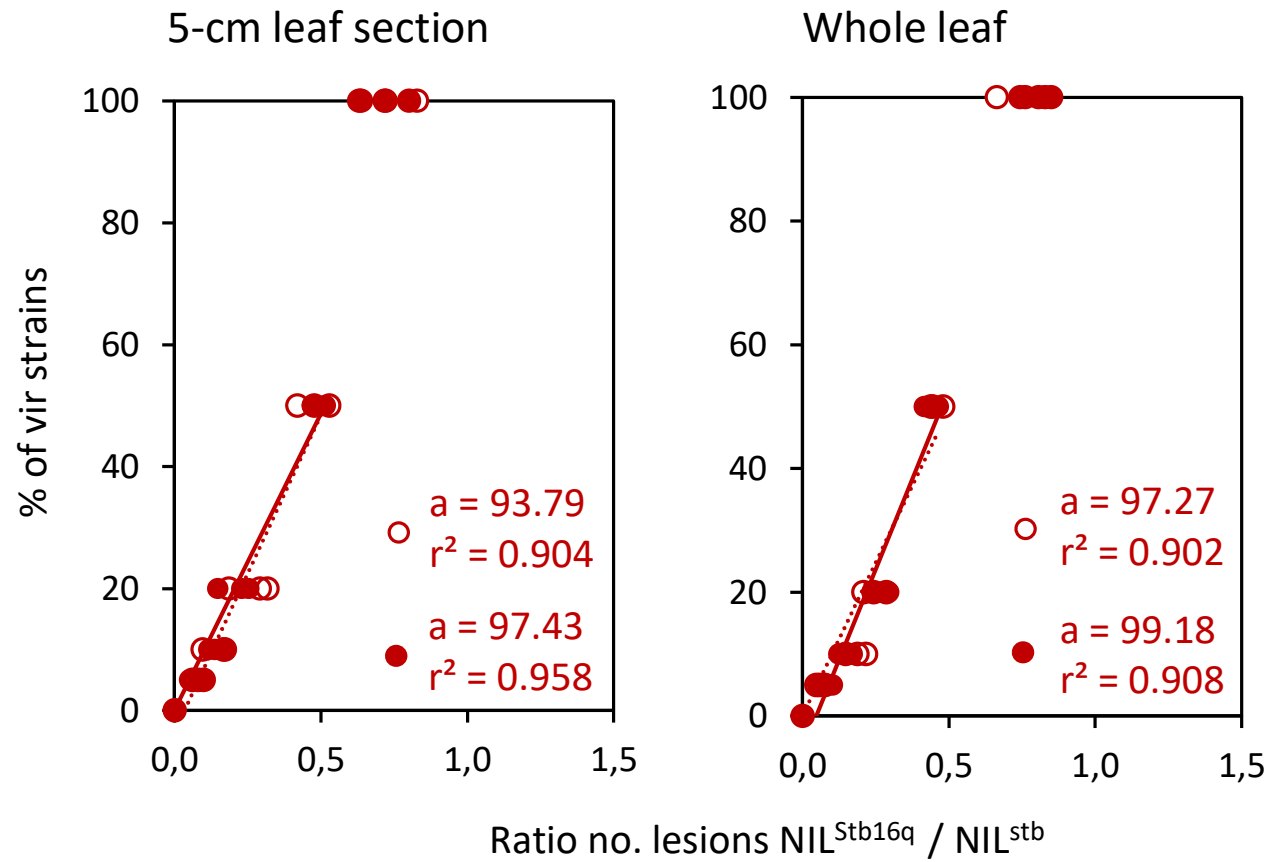
5 proportions





# Stb16q

10 avr + 10 vir  
5 proportions



+ pool de descendants vir x avr --> ratio 1:1

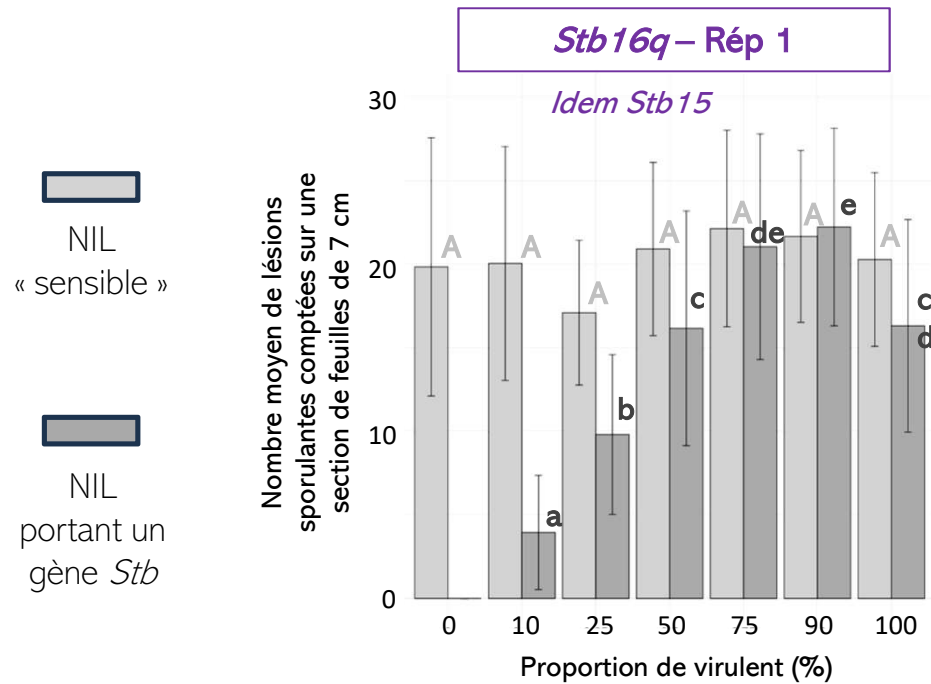
## Autres gènes Stb ?

Stb5, Stb6, Stb9, Stb15, Stb16q, Stb20q



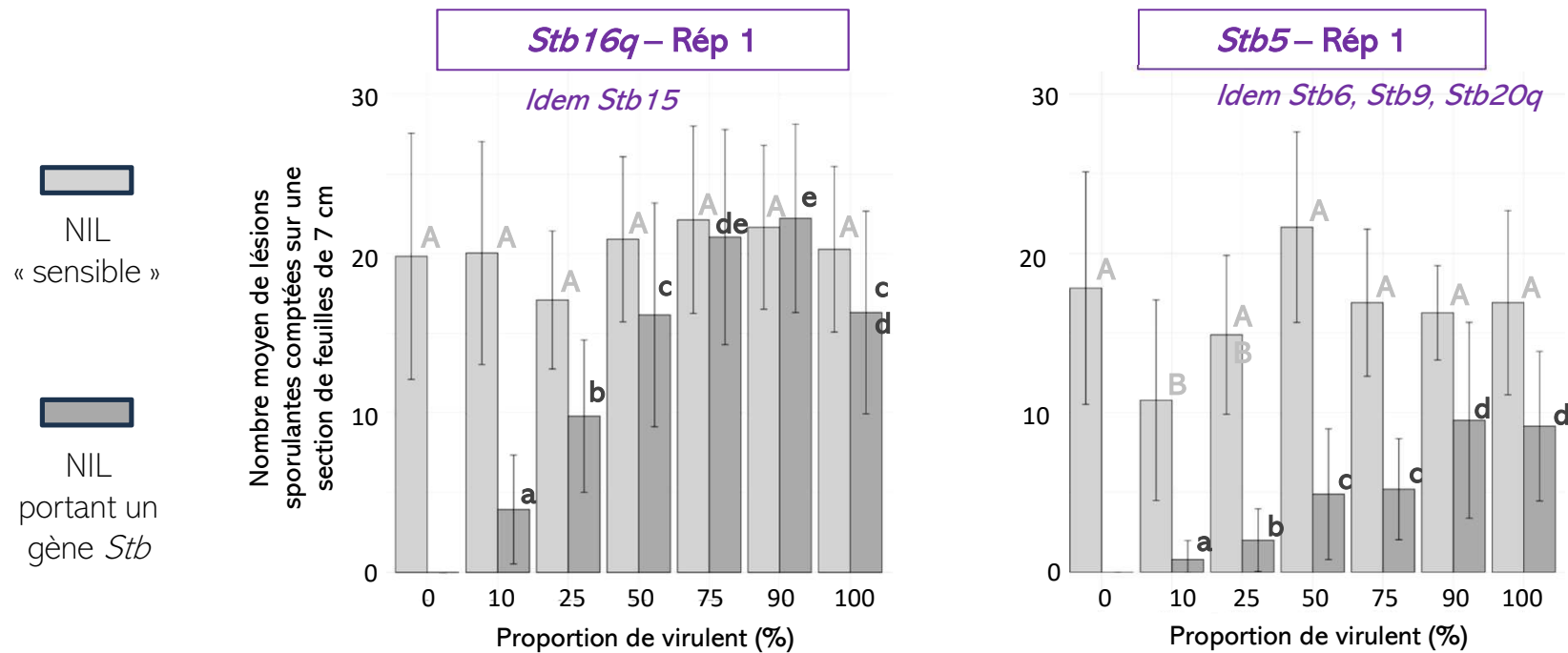
Younès Amara

## Effet de la proportion de souches virulentes sur l'intensité des attaques



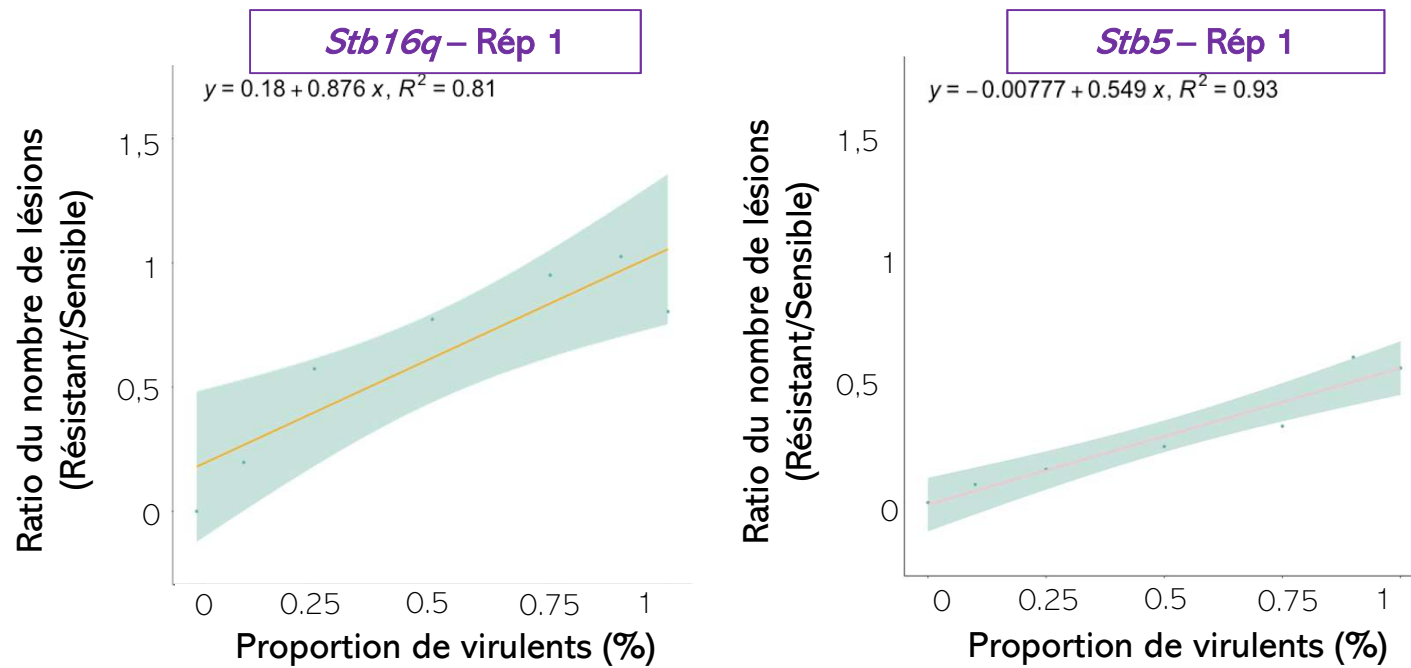
Le nombre de lésions sur les variétés porteuses d'un gène *Stb* augmente avec la proportion de souche virulente inoculée.

## Effet de la proportion de souches virulentes sur l'intensité des attaques



La souche virulente attaque **significativement moins** la variété porteuse d'un gène *Stb* que la sensible : effet résiduel de la résistance ?

## Effet de la proportion de souches virulentes sur l'intensité des attaques



Relation linéaire, positive  
Pente qui varie de 0.5 à 1 en fonction du gène *Stb*

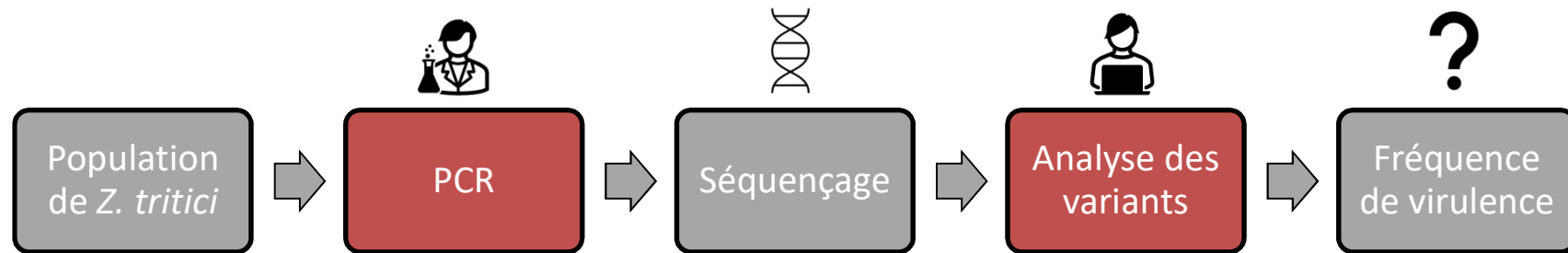
## Conclusion

Principe validé vis-à-vis de tous les gènes *Stb* : relation linéaire

- La qualité prédictive de la relation peut être influencé par :

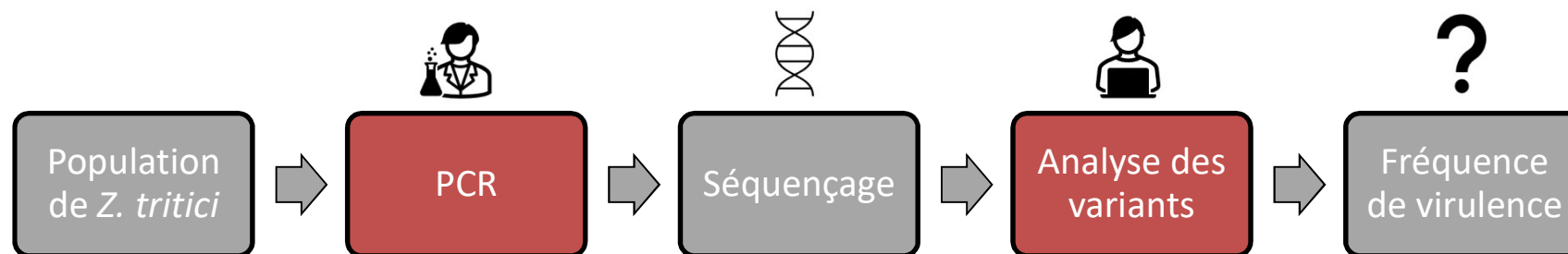
- ? La concentration en spores dans la suspension d'inoculum
- ? Effet résiduel de la résistance
- ? Le mécanisme de résistance (gène *Stb*)
- ? La diversité de la population

## (2) Approche moléculaire

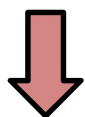


- 1) Gènes **d'avirulence**
- 2) Gènes de **référence**

## (2) Approche moléculaire



- 1) Gènes **d'avirulence**
- 2) Gènes de **référence**



### 1 Conception de paires d'amorces

Gène d'avirulence

*AvrStb6*

*AvrStb9*

*AvrStb15*

*AvrStb20q*

Gène de référence

*$\beta$ -tubuline*

*Actine*

*EF1- $\alpha$*

Base de données de +700 souches séquencées

Régions visant des résidus liés au caractère virulent<sup>†</sup>

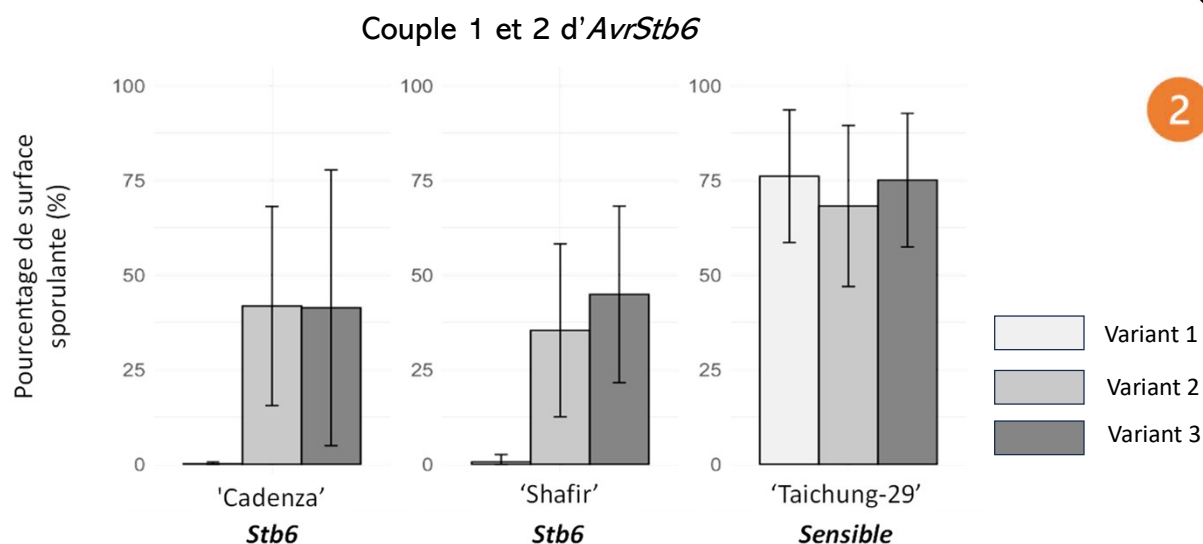
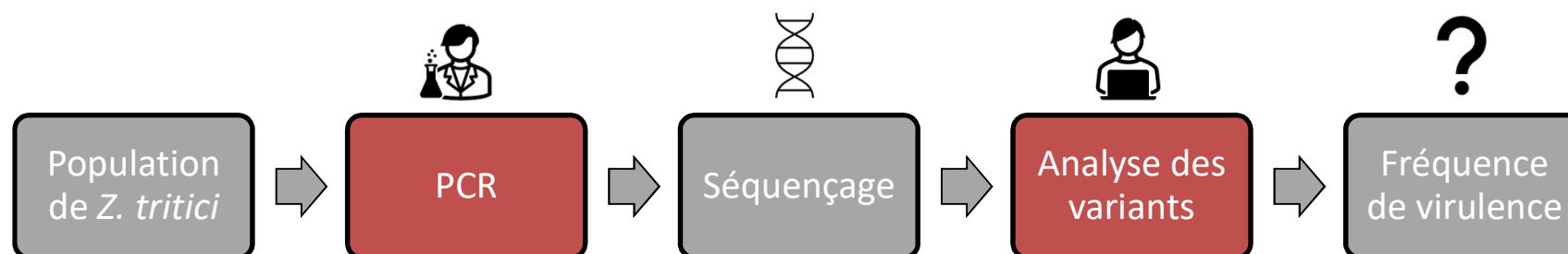
400 pb



Validation des paires d'amorces avec une PCR sur des souches



## (2) Approche moléculaire



2 Capacité de diagnostic de la virulence des variants

Données obtenues sur 100 souches

✓  
Variants reliés à l'agressivité des souches

La région amplifiée par *AvrStb6* – Couple 1 et 2 permettent d'identifier des variants « avirulents » et « virulents »

# Perspectives

Enjeu : raisonner le déploiement des sources de résistances (pyramidage, mosaïques, mélanges) pour augmenter leur **durabilité**

Besoin : **épidémiosurveillance** = suivi de la fréquence des virulences

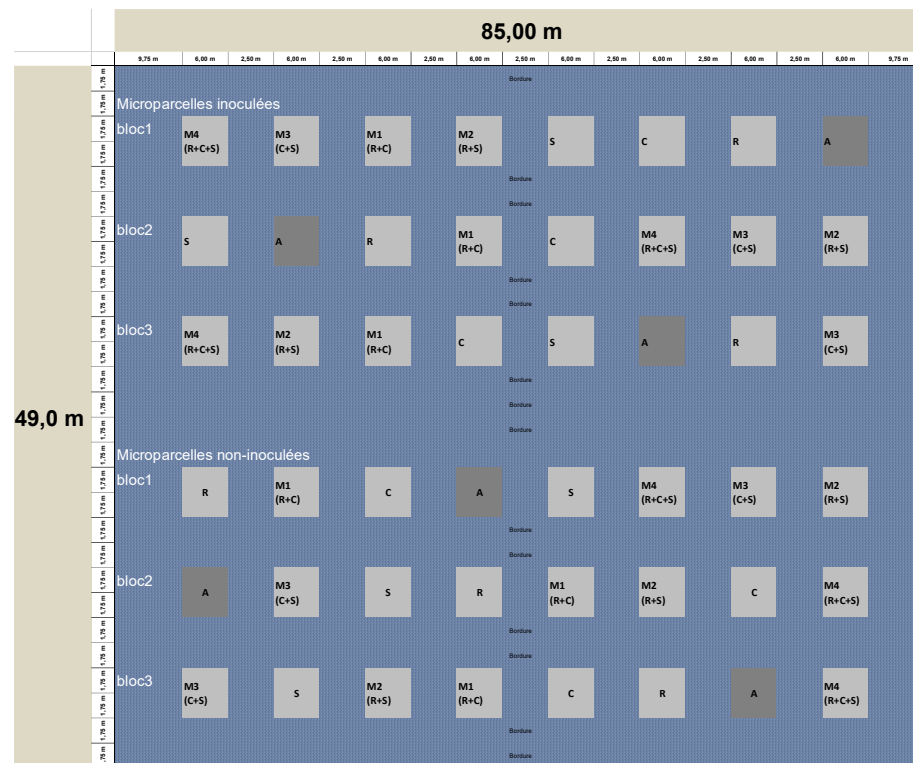
# Perspectives

Mélanges variétaux : associer plusieurs gènes Stb

1 essai dupliqué UE INRAE Versailles et ARVALIS Boigneville (x 2 ans)



Chloé Papin



8 modalités

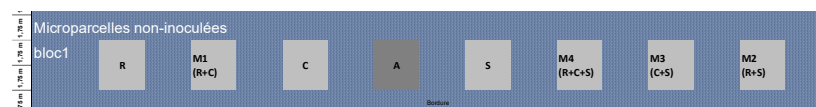
- Renan (Stb6 + Stb20q + autres sources de R)
- Cellule (Stb16q)
- Soissons (Stb20q + Stb9)
- Apache (« sans filtre », aucun des 4 Stb)
- Mélange 1 (Renan + Cellule à 50/50)
- Mélange 2 (Renan + Soisson à 50/50)
- Mélange 3 (Cellule + Soisson à 50/50)
- Mélange 4 (Renan + Cellule + Soisson à 33/33/33)

X

2 traitements

- Inoculé (choix des souches vir/avr)
- Non inoculé (infections naturelles)

1 essai dans 11 sites (x 2 ans)



# MERCI !

**INRAE**



**Thierry C. Marcel**  
**Manon Delanoue**  
Younès Amara  
Stéphanie Le Prieur  
Alicia Noly  
Sandrine Gélisse  
Emmie Dzialo  
Carolina Orellana-Torrejon  
Tiphaine Vidal  
Sébastien Saint-Jean

**INRAE**



**Cyrille Saintenac**



**Romain Valade**  
**Chloé Papin**



PERSIST

**INRAE**

**MP SuMCrop**

DICCOM

**anr**

COMBINE

**MOBiDiv**

