

Habilitation à Diriger des Recherches

Université de Bordeaux 1

Ecologie et évolution d'un système hyperparasité

Cécile Robin

UMR 1202 Biodiversité, Gènes et Communautés (BIOGECO)

(Institut National de la Recherche Agronomique,

Université de Bordeaux 1)



Biodiversité, gènes & communautés



Mes sincères remerciements vont :

- aux membres du jury et plus particulièrement aux rapporteurs
- à tous les membres de l'équipe « Patho For », plus spécialement à M.L. Desprez-Loustau, pour m'avoir soutenu et encouragé tout au long de ma carrière, à Cyril Dutech, Alain Franc, Roland Schafleitner, Andrey Morozov, Nicolas Feau, qui m'ont fait profiter de leurs compétences et connaissances, à Xavier Capdevielle, Olivier Fabreguettes, Martine Martin-Clotté, Gilles Saint-Jean pour leurs solides appui et aide techniques, Brigitte Lung et Corinne Vacher pour leur amitié et complicité
- aux doctorants et étudiants que j'ai encadrés, à qui j'espère avoir transmis mon goût pour la recherche et qui, eux aussi, m'ont beaucoup apporté
- à tous les CDD sans qui ces recherches n'auraient pas pu se faire
- aux collègues de l'UMR Santé Végétale, avec qui nous avons longtemps cohabité
- à tous les collègues de l'UMR Biogeco qui nous ont accueilli au milieu des bois ou dans le dédale des salles de cours de l'université
- à Laurent, Lola et Ninon qui n'ignorent rien désormais des secrets des châtaigniers

Sommaire

SOMMAIRE	1
CURRICULUM VITAE.....	3
DIPLOMES.....	3
ACTIVITES PROFESSIONNELLES.....	3
ENCADREMENTS ET ENSEIGNEMENTS.....	4
<i>Encadrements de thèses :</i>	4
<i>Encadrement de post-doctorats :</i>	4
<i>Encadrement de CDD ingénieurs :</i>	4
<i>Encadrement de stagiaires</i>	4
<i>Enseignements</i>	4
<i>Formations :</i>	5
ANIMATION DE LA RECHERCHE:	5
<i>Animation locale</i>	5
<i>Animation nationale</i>	5
<i>Responsabilité scientifique et rédaction des rapports de projets de recherche (depuis 2000) :</i>	5
<i>Participation à des projets de recherche (depuis 2000)</i>	6
<i>Activités de valorisation et d'expertise :</i>	6
LISTE DES PUBLICATIONS	7
<i>Articles dans des revues avec comité de lecture</i>	7
<i>Articles soumis</i>	8
<i>Articles dans des revues avec comité de lecture non répertoriées dans des bases de données internationales</i>	8
<i>Articles dans des revues sans comité de lecture</i>	8
<i>Chapitres d'ouvrages</i>	9
<i>Communications orales principales :</i>	9
SYNTHESE D'UNE ACTIVITE SCIENTIFIQUE : PREAMBULE.....	12
INTRODUCTION	13
SYSTEMES HYPERPARASITES	13
LE CHANCRE DU CHATAIGNIER: UNE INVASION BIOLOGIQUE.....	13
LE CHV1 : UN HYPOVIRUS HYPERPARASITE	14
AXES DE RECHERCHE.....	15
DIVERSITE GENETIQUE DES POPULATIONS	16
DIVERSITE ET RICHESSE EN GCV DES POPULATIONS DE C. PARASITICA.....	16
DES POPULATIONS FONGIQUES COMPOSEES DE LIGNEES CLONALES DOMINANTES	18
DIFFERENCIATION ET ORIGINE DES POPULATIONS FRANÇAISES DE C. PARASITICA	19
DIVERSITE GENETIQUE DU CHV1 EN FRANCE ET NAVARRE.....	21
TRAITS D'HISTOIRE DE VIE ET SUCCES INVASIF	23
VARIABILITE DES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE CHEZ C. PARASITICA	23

VARIABILITE DES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE CHEZ LE CHV1	26
LES FACTEURS EXPLICATIFS DE L'ETABLISSEMENT DU CHV	27
TRANSMISSION ET VIRULENCE DU CHV1	29
TRANSMISSION HORIZONTALE DU CHV1 IN PLANTA	29
PRESSION PARASITAIRE ET MAINTIEN DU POLYMORPHISME.....	30
COEVOLUTION CHAMPIGNON-VIRUS.....	32
CONCLUSION	33
PERSPECTIVES	33
STRATEGIE ADAPTATIVE ET STRATEGIE DE REPRODUCTION DE C. PARASITICA	34
DIVERSITE GENETIQUE ET EVOLUTION DES GENES D'INCOMPATIBILITE VEGETATIVE	34
ARCHITECTURE GENETIQUE DE LA RESISTANCE DU CHATAIGNIER	35
COMMUNAUTES FONGIQUES	36
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	37

Curriculum vitae

Cécile Robin

UMR 1202, BIOGECO, INRA et Université Bordeaux1,

69 route d'Arcachon, 33612 Cestas

mail : robin@pierroton.inra.fr

tel : 05 5712 27 20

Diplômes

Septembre 1988 : Diplôme d'Ingénieur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon

Septembre 1988 : DEA de Pathologie végétale de l'INA-PG et des Universités de Paris VI et Paris XI.

Décembre 1991 : Doctorat de l'Université de Bordeaux 2.

Activités professionnelles

1988 : Stage de DEA : station de Pathologie Végétale, INRA, Bordeaux

1988 : recrutée Agent Scientifique Contractuel INRA, station de Pathologie Végétale, INRA Bordeaux (département Pathologie végétale)

1988-1991 : thèse de doctorat : la maladie du chêne rouge *Quercus rubra* L., causée par *Phytophthora cinnamomi* : perspectives pour l'amélioration génétique de la résistance (station de Pathologie Végétale, INRA Bordeaux)

1992-1993 : post-doctorat : étude des éliciteurs de *Phytophthora parasitica* (School of Botany, Université de Melbourne, Australie, financement INRA et Australian Tobacco Research and Development Council)

1993 : recrutée Chargée de recherche (CR2, département Pathologie végétale, devenu département SPE), station de Pathologie Végétale INRA, Bordeaux (devenue UMR Santé Végétale, INRA-ENITAB, en 1999)

1999 : avancement CR1

2003 : affectation à l'UMR BIOGECO (INRA-UB1), affectation au département INRA EFPA

2003 et 2005 : congés de maternité.

Encadrements et enseignements

Encadrements de thèses :

- Marion Maurel : Impact écophysiological sur jeunes chênes et châtaigniers de l'infection racinaire par *Phytophthora cinnamomi*. Université Paris XI Orsay., soutenance octobre 2001 (coencadrement avec MLDesprez-Loustau).

Articles : P10, P11, P13 (les numéros renvoient à la liste des publications).

M. Maurel a réalisé deux post-doctorats depuis sa thèse.

- Jérémie Brusini. 2009. Conséquences de l'incompatibilité végétative et de l'infection virale sur l'écologie et l'évolution de l'interaction *Cryphonectria parasitica* / *Cryphonectria Hypovirus*". Université Bordeaux 1, Ecole doctorale Science et Environnement (coencadrement avec A. Franc).

Articles : P27, P28

J. Brusini est actuellement en post-doctorat à l'Université de Floride, Gainesville, USA.

- Tristan Cordier 2008-2011: Evolution des communautés de champignons parasites forestiers sous l'effet du changement climatique, Université Bordeaux 1, Ecole doctorale Science et Environnement, soutenance prévue en 2011 (Coencadrement ML Desprez-Loustau, C. Vacher).

Encadrement de post-doctorats :

-R. Schafleitner 2003 (12 mois): Diversité et détection des sous-types de *CryphonectriaHypoVirus1* en France.

Article en préparation, communication P51.

- A. Morozov 2005 (3 mois): Dynamique d'un système hyperparasité : modélisation SIR.

Article : P20

Encadrement de CDD ingénieurs :

O. Morel 2001 (12 mois) : diversité et distribution des *Phytophthora* spp. dans les châtaigneraies, sensibilité de *C. sativa*.

Article : P15, P17

T. Decourcelle 2007 :prévalence de *Phytophthora cinnamomi* et *cambivora* en pépinières françaises.

Article en préparation, communication P61.

Encadrement de stagiaires

niveau bac+5 : 11

niveau bac +4: 7

niveau bac+3 ou moins : 5

Enseignements

Cours assurés à :

- l'Université de Bordeaux 1, Mention Systèmes Ecologiques, Spécialité Systèmes terrestres, UE Interactions Biotiques (4 h, 2004-2008), participation à l'atelier bibliographique de cette même UE.

- l'Université de Bordeaux 2, Mention Biologie Santé, spécialité Biologie et Biotechnologie des Plantes, UE Interactions plantes-pathogènes et épidémiologie (3h, 2004-2009)

- l'Université Bordeaux 4, DESS « Gestion de la forêt cultivée » de Bordeaux IV (2h 2001-2003)
- l'Université de Pau, Master de Biologie (3h, 2008-2009)
- l'ENITA de Bordeaux, troisième année de spécialisation (2h, 2001-2004)
- l'INA-PG (2h, 2000)

Participation à des jurys (Ecoles d'ingénieur, Masters) et comités de thèse. Examen et rédaction de rapports de thèses (universités australiennes).

Formations :

Formation des ingénieurs et techniciens forestiers du Département Santé des Forêts (2001, 2003, 2005).

Formation continue « Châtaignier » de l'Ecole d'Ingénieurs de Lullier (Suisse, 2008), intervention auprès de l'Association pour la Promotion du Châtaignier à Bois (2008).

Animation de la recherche:

Animation locale

Responsable scientifique de l'équipe de Pathologie forestière de l'UMR BIOGECO depuis janvier 2006 (animation et gestion d'une équipe de 5 scientifiques et 4 techniciens permanents, 2 à 3 étudiants doctorants, 2 à 3 CDD).

Création et animation (oct 2008) de la première rencontre du groupe « champignons de Bordeaux », réunissant sept équipes de recherche bordelaises travaillant sur les Champignons et Oomycètes (20 chercheurs permanents).

Animation nationale

Membre nommé de la Commission Scientifique Spécialisée Biologie des Populations et des Ecosystèmes (2007-2011)

Déléguée nationale pour l'action COST FP0801 (Established and Emerging *Phytophthora*: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe, 2009-2012)

Déléguée nationale pour l'action COST G4 (Multidisciplinary Chestnut Research, 1998-2001)

Création et animation du groupe « Phytophthora », élargi aux Pythiacées (1996- 2000), soutenu par la Société Française de Phytopathologie.

Participation à plusieurs réseaux d'animation scientifiques: le groupe *Champignons Phytopathogènes* du Réseau Interactions Durables (REID); le réseau EFPA Ecologie et génétique du parasitisme, réseau Oomycètes.

Responsabilité scientifique et rédaction des rapports de projets de recherche (depuis 2000) :

« Dissémination de l'hypovirulence dans le massif des Maures », convention DERF 1999-2001.

« CASCADE : securing gene conservation, adaptive, breeding potential and utilization of a model multipurpose tree species (*Castanea sativa*) in a dynamic environment », projet européen 2000-2003, appel d'offres EVK2-1999-00065P. Responsabilité du partenaire INRA.

« Mise au point des modalités de la lutte biologique contre le chancre du châtaignier en parcelles forestières », convention DERF 2002-2003. Rédaction rapport final.

« Mise au point de la lutte biologique contre le chancre du châtaignier dans les Pyrénées », Coopération Recherche et développement Technologique pour le CR Aquitaine, 2002-2003. Rédaction rapport final.

« Lutte biologique et valorisation du châtaignier » Région Aquitaine (Coopération Recherche et développement Technologique), 2007-2008.

« Evaluation, analyse et gestion des contaminations par *Phytophthora* spp. en pépinières forestières », convention DERF 2006-2007. Compte-rendu final de contrat avec la DGFAR (2006-2007) : Robin C., Decourcelle T. 2007. Evaluation, analyse et gestion des contaminations par *Phytophthora* spp. en pépinières forestières

Participation à des projets de recherche (depuis 2000)

« PATHOAK : Long term dynamics of Oak ecosystems : assessment of the role of root pathogens and environmental constraints as interacting decline factors » projet européen, appel d'offres A754 CT 97-3226.

« Quantification, spatialisation, vulnérabilité et impacts de différents scénarios climatiques et sylvicoles » projet CARBOFOR, appel d'offre GIP Ecofor, GICC, 2001-2004.

« Sélection, multiplication et diversité du châtaignier en Aquitaine et en Navarre », Coopération Recherche et Développement Technologique pour le CR Aquitaine, 2002-2003.

« Développement de méthodes innovantes pour la détection de champignons pathogènes forestiers émergents », AIP EpiMerge, INRA, 2004-2005.

« DAISIE : Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe », projet européen appel d'offres SSPI-CT-2003-5112022005-2008.

« Dimension fongique des invasions biologiques » appel d'offres INRA Epidémiologie (SPE, EFPA et MIA) 2006-2007.

« Inférence de la taille effective et des capacités de dispersion des champignons pathogènes à partir des outils et méthodes récentes de génétique des populations » appel d'offres INRA Epidémiologie (SPE, EFPA et MIA) 2006-2007.

« CastaneaREG : Evaluation, analyse et gestion de la biodiversité au sein de l'espèce *Castanea sativa* (châtaignier européen) dans les régions de l'Espace Atlantique », appel d'offre européen INTERREG IIIB Espace Atlantique

« REALTIME : Effets de la sélection naturelle par des bioagresseurs sur le génome de leur arbre-hôte » appel d'offre ANR Génoplante (2008-2011).

« EMERFUNDIS : comprendre les émergences de maladies fongiques de plantes : vers une estimation des risques liés aux changements globaux », appel d'offres « Biodiversité » ANR-IFB (2008-2010).

« PRATIQUE : Enhancements of pest risk analysis techniques » projet européen (2008-2011), appel d'offre KBBE-2007-1-2-03 intitulé « Development of more efficient risk analysis techniques for pests and pathogens of phytosanitary concern »,

« BACCARA: Biodiversity and Climate Change, A Risk Analysis » Projet européen (2008-2011), appel d'offre KBBE-2008-1-2-06

Activités de valorisation et d'expertise :

Obtention d'une licence de savoir faire avec la société Biotisa « commercialisation des souches hypovirulentes de *Cryphonectria parasitica*.

Referee pour diverses revues scientifiques (Phytopathology, Molecular Ecology, Forest Ecology and management, Forest Pathology, Plant Pathology....).

Referee d'un projet pour l'OTAN.

Reviewer pour l'OEPP (protocole de diagnostic pour *Cryphonectria parasitica*), pour le groupe Invasive Species Specialist de l'IUCN.

Liste des publications

Articles dans des revues avec comité de lecture

- P1 Robin C., Desprez-Loustau M.L., Delatour C. 1992. Spatial and temporal enlargement of cankers of *Phytophthora cinnamomi* in red oak. Can. J. For. Res. 22:3:362-366
- P2 Robin C., Desprez-Loustau M.L., Delatour C. 1992. Factors influencing the enlargement of cankers of *Phytophthora cinnamomi* in red oak. Can. J. For. Res. 22:3:367-374.
- P3 Robin C. 1992. Trunk inoculations of *Phytophthora cinnamomi* in red oaks. 1992. Eur. J. For. Path. 22(2-3):157-165.
- P4 Robin C., Dupuis F., Desprez-Loustau M.L. 1994. Seasonal changes in northern red oak susceptibility to *Phytophthora cinnamomi*. Plant Disease 78: 369-374.
- P5 Robin C. and Guest D. 1994. Characterisation of pathogenicity of *Phytophthora parasitica* isolates by stem and detached-leaf inoculations in four tobacco cultivars. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 22: 1-8.
- P6 Robin C. and Desprez-Loustau M.L. 1998. Testing variability in pathogenicity of *Phytophthora cinnamomi*. Eur. J. Plant. Path. 104:465-475.
- P7 Robin C., Desprez-Loustau M.L., Capron G., Delatour C. 1998. First record in Southeastern France and pathogenicity of *Phytophthora cinnamomi* on cork and holm oak. Ann. Sci. For. 55: 869-883.
- P8 Robin C., Anziani C., Cortesi P. 2000. Relationship between biological control, incidence of hypovirulence, diversity of vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica* in France. Phytopathology 90:730-737.
- P9 Robin C., Capron G., Desprez-Loustau M.L. 2001. Root infection by *Phytophthora cinnamomi* in seedlings of three oak species. Plant Pathology 50 :708-716.
- P10 Maurel M., Robin C., Capdevielle X., Loustau D., Desprez-Loustau M. L. 2001. Effects of variable root damage caused by *Phytophthora cinnamomi* on water relations of chestnuts saplings. Ann. For. Sci. 58:639-651.
- P11 Maurel M., Robin C., Capron G., Desprez-Loustau M. L. 2001. Effects of root damage associated with *Phytophthora cinnamomi* on water relations, biomass accumulation, mineral nutrition and vulnerability to water stress of three oak species. Forest Pathology 31(2001):353-369.
- P12 Guérin L., Robin C. 2003. Seasonal Effect on Infection and Development of Lesions Caused by *Cryphonectria parasitica* (Murr.) in *Castanea sativa* (Mill.). Forest Pathology 33:223-235.
- P13 Maurel M., Robin C., Simoneau T., Loustau D., Dreyer E., Desprez-Loustau M. L. 2004. Stomatal conductance and root-to-shoot signalling in chestnut saplings exposed to *Phytophthora cinnamomi* or partial soil drying. Functional Plant Biology 31, 41-51.
- P14 Juhásová G., Adamčíková K., Robin C. 2005. Results of biological control of chestnut blight in Slovakia. Phytoprotection 86: 19-23
- P15 Vettraino A.M., Morel O., Perlerou C., Robin C., Diamandis S., Vannini A. 2005. Occurrence and distribution of *Phytophthora* species in European chestnut stands, and their association with Ink disease and crown decline. European Journal of Plant Pathology 111: 169-180.
- P16 Breuillin F., Dutech C., Robin C. 2006 Genetic diversity of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* within four French populations assessed by microsatellite loci. *Mycological Research* 110: 288-296
- P17 Robin C., Morel O., Vettraino A.M., Perlerou C., Diamandis S., Vannini A. 2006 Genetic variation in susceptibility to *Phytophthora cambivora* in European chestnut (*Castanea sativa*). Forest Ecology Management 226:199-207.
- P18 Desprez-Loustau ML, Robin C, Buée M, Courtecuisse R, Garbaye J, Suffert F, Sache I, Rizzo D. 2007. The fungal dimension of biological invasions. TRENDS in Ecology and Evolution. 22:472-480.

- P19 Desprez-Loustau M.L., Robin C., Reynaud G., Déqué M., Badeau V., Piou D., Husson C., Marçais B. 2007. Simulating the effects of a climate change scenario on geographical range and activity of forest pathogenic fungi. *Can J Plant Pathol.* 249 (2007) 246–253.
- P20 Morozov A.Y., Robin C., Franc A. 2007. A simple model for the dynamics of a Host-Pathogen-Hyperparasite interaction. *Journal of Theoretical Biology.* 249 : 246–253.
- P21 Dutech C., Rossi JP, Fabreguettes O., Robin C. 2008. Geostatistical genetic analysis for inferring the dispersal pattern of a partially clonal species: example of the chestnut blight fungus. *Molecular Ecology*, 17, 4597–4607.
- P22 Robin C., Martin M., Capdevielle X., Traver C., Colinas C. 2009. *Cryphonectria parasitica* vegetative compatibility type analysis of populations in south-western France and northern Spain. *Plant Pathology* 58, 527–535.
- P23 Desprez-Loustau M.L., Courtecuisse R., Robin C., Husson C., Moreau P.A., Blancard D., Selosse M.A., Lung-Escarmant B., Piou D., Sache I. 2010. Species diversity and drivers of spread of alien fungi (sensu lato) in Europe with a particular focus on France. *Biological Invasions* 12:157-172.
- P24 Dutech C., Fabreguettes O., Capdevielle X., Robin C. 2010. Multiple introductions of divergent genetic lineages in an invasive fungal pathogen, *Cryphonectria parasitica*, in France. *Heredity*.
- P25 Robin C., Lanz S., Soutrenon A., Rigling D. 2010. Dominance of natural over released biological control agents of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* in southeastern France is associated with fitness related traits. *Biological Control* 53:55-61.

Articles soumis

- P26 Robin C., Piou D., Feau N., Douzon G., Schenk N., Hansen E.M. 2010. Root and aerial infections of *Chamaecyparis lawsoniana* by *Phytophthora lateralis* : a new threat for European countries. *Forest pathology*. In press.
- P27 Brusini J., Robin C., Franc A. To fuse or not to fuse? An evolutionary view of self/non-self recognition systems. Soumis.
- P28 Brusini J., Robin C., Franc A. Parasitism and maintenance of diversity in fungal vegetative incompatibility system: the role of selection by deleterious cytoplasmic elements. Soumis.
- P29 Philibert A., Desprez-Loustau M.L., Fabre B., Frey P., Halkett F., Husson C., Lung-Escarmant B., Marçais B., Robin C., Vacher C., Makowski D. 2010. Predicting invasion success in forest pathogenic fungi from species traits. *Journal of Applied Ecology*. Soumis.

Articles dans des revues avec comité de lecture non répertoriées dans des bases de données internationales.

- P30 Robin C., Heiniger U. 2001. Chestnut blight in Europe: diversity of *Cryphonectria parasitica*, hypovirulence and biocontrol. *Forest Snow and Landscape Research* 76(3):361-367.
- P31 Trestic T., Uscupulic M., Colinas C., Robin C. 2001. Vc type diversity of *Cryphonectria parasitica* populations in Bosnia-Herzegovina, Spain and France. *Forest Snow and Landscape Research* 76(3):391-396.

Articles dans des revues sans comité de lecture.

- P32 Baudry A., Robin C. 1996. Le châtaignier: des plants, du bois, des fruits. Un point sur l'état sanitaire en France. *Arboriculture fruitière* 499: 21-27.
- P33 Desprez-Loustau M.L., Robin C., Delatour C. 1996. Mise en évidence de *Phytophthora cinnamomi* sur chêne-liège dans les Maures et l'Esterel. *Les Cahiers du DSF (La Santé des forêts [France] en 1995)* 1-1996: 60.

- P34 Robin C., Anziani C. 1997. Le chancre du châtaignier en Périgord : diversité des chancres et des isolats de *Cryphonectria parasitica*. Les Cahiers du DSF (La Santé des forêts [France] en 1996) 1-1997: 80-81.
- P35 Anziani C, Robin C. 1999. Le chancre du châtaignier en France: hypovirulence et structure des populations de *Cryphonectria parasitica*. Phytoma 517 :44-47.
- P36 Robin C., Desprez-Loustau M.L. 1999. Evaluation des risques vis-à-vis de *Phytophthora cinnamomi* liés à la production de plants de feuillus en pépinières. Les Cahiers du DSF 1. La Santé des Forêts 1998, 90-92.
- P37 Robin C., Soutrenon A., Rigling D. 2002. Chancre du châtaignier : l'hypovirulence bien établie dans le massif des Maures. Les Cahiers du DSF, 1-2002 (La Santé des Forêts [France] en 2000 et 2001), Min. Agri. Alim. Pêche Aff. rur. (DERF), Paris, pp. 118-122.
- P38 Robin C. 2005. Des châtaigniers résistants à l'encre : quels espoirs ? Forêt Entreprise 165 :45-47.
- P39 Robin C. 2005. Hypovirulence : les châtaigniers guérissent naturellement du chancre, Forêt Entreprise 165 :26-30.
- P40 Desprez-Loustau M.L., Belrose V., Bergot M., Capron C., Cloppet E, Husson C, Piou D, Reynaud G, Robin C. and Marçais M. 2006. Distribution géographique et impact des champignons pathogènes forestiers- Simulation des effets d'un changement climatique – Les cahiers du DSF 1-2006 : 36-39.

Chapitres d'ouvrages

- P41 Robin C. 2002. La culture du châtaignier en France. In « *Il castagno da frutto in Italia e nel mondo*, » Edagricole- Calderini, Bologna, by G. Bounous, pp 232-243.
- P42 Desprez-Loustau M.L., Robin C., Buée M, Fabreguettes O, Husson C, Lung-Escarmant B, Yart A, Godon JJ. 2009. Développement de méthodes innovantes pour la détection de champignons pathogènes forestiers émergents. . In : Emergences Eds Barnouin & Sache. Editions QUAE, Paris
- P43 Desprez-Loustau M.L., Robin C., Reynaud G, Déqué M, Badeau V, Piou D, Husson C, Marçais B. 2009. Simulating the effects of a climate change scenario on geographical range and activity of forest pathogenic fungi. In: Response of temperate and Mediterranean forests to climate change: effects on carbon cycle, productivity and vulnerability. Ed. D. Loustau, Editions QUAE (in press).

Communications orales principales :

- P44 Robin C., Guest D. 1993. Differential elicitation of defence mechanisms in tobacco cultivars. Abstracts 9th biennial conference of the Australasian Plant Pathology Society, Hobart, 4-8 Juillet
- P45 Robin C., Desprez-Loustau M.L., Ducouso A., Kremer A. 1995. Le pathosystème Chêne rouge (*Quercus rubra*) - *Phytophthora cinnamomi*, comparaison de l'aire naturelle et de l'aire d'introduction récente. Réunion finale de l'AIP (Agrotec 9520) «Etude de la coévolution des populations végétales domestiquées face à leurs agents pathogènes», 135-143.
- P46 Robin C., Anziani C., Cortesi P. 1998. Hypovirulence and population structure of *Cryphonectria parasitica* in France. Second international chestnut symposium, October 19-23, Bordeaux (France).
- P47 Robin C., Capron G., Capdevielle X. 2000. Distribution and survival of *Phytophthora cinnamomi* in a comparative plantation of three chestnuts provenances. Proceedings of the First International Meeting on *Phytophthoras* in Forest and Widland Ecosystems, Grants Pass, Oregon, USA, August 30-September 3 1999.

- P48 Morel O., Robin C., Langrell S.R.H. 2001. Development of a multiplex PCR assay for the detection and identification of *Phytophthora cinnamomi* and *P. cambivora* from French chestnut grove soils. Second International Meeting on *Phytophthoras* in Forest and Widland Ecosystems, Albany, Western Australia, 30 September-October 2001.
- P49 Robin C., Desprez-Loustau M.L., Marçais B., Delatour C. 2001. Results of 10 years of investigations on the ink disease caused by *Phytophthora cinnamomi* on *Quercus rubra* and *Q. robur*: etiology, breeding for resistance and hazard mapping. Second International Meeting on *Phytophthoras* in Forest and Widland Ecosystems, Albany, Western Australia, 30 September- October 2001.
- P50 Robin C. 2003 Structure des populations de *Cryphonectria parasitica* en France. Congrès de la SFM, Nancy janvier 2003.
- P51 Robin C., Schafleitner R., Busvelle M., Schafleitner S., Capdevielle X. 2004. Diversity of *Cryphonectria parasitica* and of *CryphonectriaHypoVirus 1*. III International Chestnut Congress, Chaves, Portugal, October 2004
- P52 Robin C., Morel O., Vettraino A.M., Vannini A., Perlerou H., Diamandis S. 2004. Variability in susceptibility to ink disease in European chestnut. III International Chestnut Congress, Chaves, Portugal, October 2004
- P53 Robin C., Dutech C., Lung, B., Desprez-Loustau M.L. 2004 Variabilité d'agents pathogènes forestiers et processus épidémiologiques. Séminaire d'Epidémiologie végétale, Carcans, octobre 2004.
- P54 Robin C., Morel O., Vettraino A.M., Vannini A., Perlerou H., Diamandis S. 2004. Variability in susceptibility to ink disease in European chestnut. III International Chestnut Congress, Chaves, Portugal, October 2004
- P55 Desprez-Loustau M.L., Belrose V, Bergot M, Cloppet E, Husson C, Piou D, Robin C., Marçais B. 2005. Impact des changements climatiques sur les maladies des arbres forestiers Journées GIP Ecofor 13-15 décembre
- P56 Robin C., Morozov A., Franc A. 2005. Modelling host-pathogen-hyperparasite: can a hypovirus control the chestnut blight disease? 9th International Epidemiology Workshop, Landerneau, Avril 2005
- P57 Robin C., Barreneche T. 2008. Genetic variation in resistance to Ink Disease. European chestnut. Workshop « Adaptive traits for breeding zone delineation », projet TREEBREEDX, Février 2008 Madrid
- P58 Brusini J., Robin C., Franc A. 2008. Maintien d'un système de reconnaissance du non soi chez les champignons : le rôle du parasitisme. Colloque ComEvol GDR CNRS / INRA 2976, Versailles, Mars 2008.
- P59 Robin C., Brusini J., Rigling D. 2009. La lutte biologique contre le chancre du châtaignier : quels espoirs pour les peuplements forestiers ? 2ème Conférence AFPP sur l'entretien des zones non agricoles, Angers, 28 et 29 octobre 2009.
- P60 Garnier-Géré P., Lang T., Abadie P., Decourcelle T., Léger V., Frigerio J.-M., Le Provost G., Burban C., Bodénès C., Guichoux E., Reviron M.-P., Robin C., Petit R., Desprez-Loustau M.-L., Plomion C., Kremer A. 2010. Genome scanning of regions showing divergent evolution between *Quercus petraea* & *Q. robur* : new insights from the oak allelic resequencing project. Conference Forest ecosystem genomics and adaptation, Madrid, 9 au 11 juin 2010.

- P61 Robin C., Decourcelle T. 2010. Occurrence of *Phytophthora cinnamomi* and *P. cambivora* in non symptomatic oak and chestnut plants in forest nurseries. Meeting Cost Action Established and Emerging Phytophthora: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe" June 27-30.
- P62 Robin C., Mougou-Hamdane A., Gion J-M, Kremer A. Desprez-Loustau M.L. 2010. Quantitative trait loci for resistance to pathogens in pedunculate oak (*Quercus robur* L.). Conference Forest ecosystem genomics and adaptation, Madrid, 9 au 11 juin 2010.
- P63 Robin C., Piou D., Feau N., Douzon G., Schenck N., Hansen E.M. 2010. Root and aerial infections of *Chamaecyparis lawsoniana* by *Phytophthora lateralis*: a new threat for European countries. Meeting Cost Action Established and Emerging Phytophthora: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe" June 27-30.

Synthèse d'une activité scientifique : préambule

J'ai consacré l'essentiel de mes activités scientifiques à l'étude de deux parasites d'arbres forestiers qui ont eu un fort impact écologique dans l'aire géographique où ils ont été introduits: *Cryphonectria parasitica* (Ascomycète), agent du chancre du châtaignier, et *Phytophthora cinnamomi*, Oomycète tellurique responsable, entre autres, de l'encre du châtaignier et du chêne.

L'étude des maladies à *Phytophthora* a été jusque 1995, une de mes principales activités. C'était la prolongation logique des études réalisées au cours de ma thèse et post-doc (P1 à P6). L'étude des interactions chêne-Phytophthora (distribution des Phytophthora, physiologie et génétique de l'interaction) a été réalisée en collaboration avec M.L. Desprez-Loustau (UMR BIOGECO, équipe de pathologie forestière) et M. Maurel (étudiante en thèse que j'ai co-encadrée avec M.L. Desprez-Loustau, P7, P9 à P11, P13). Concernant l'encre du châtaignier je me suis principalement intéressée à la variabilité génétique de la résistance (P15, P17). J'ai également participé ces dernières années à différents projets dont l'objectif était de caractériser les invasions fongiques, d'identifier les facteurs explicatifs du succès invasif des champignons exotiques ou une nouvelle espèce invasive en France (P18, 23, 26, 29). La synthèse de ces travaux sur les Phytophthora ou les invasions n'est pas présentée dans ce document.

A partir de 1995, j'ai initié un programme de recherches sur l'écologie et l'évolution de l'interaction châtaignier-*C. parasitica*-CryphonectriaHypoVirus1 (CHV1). Ma motivation était double :

- ce pathosystème est un modèle pour les invasions biologiques de champignons mais aussi pour les interactions à trois niveaux trophiques hôte-parasite-hyperparasite et permettait d'appréhender plusieurs questions de recherche

- cette maladie a un fort impact du fait de l'importance écologique et économique du châtaignier et la forte fréquence de la maladie du chancre. Mes études ont donc des applications directes telles que l'amélioration de la gestion des taillis de châtaignier et de la lutte biologique contre le chancre du châtaignier à l'aide du CHV1. Ainsi, j'ai déposé une licence de savoir-faire pour la production de souches hypovirulentes. De nombreuses conventions ont pu être également établies avec le Ministère de l'Agriculture, le département Santé des Forêts, la région Aquitaine ou l'Union Européenne, permettant de financer une partie de ce programme de recherche.

Ce programme est devenu un des programmes fédérateurs de notre équipe grâce aux études multidisciplinaires développées avec C. Dutech (généticien des populations), A. Franc (modélisateur), deux post-doctorants (R. Schlafleitner, A. Morozov), un doctorant (J. Brusini), l'appui de nombreux étudiants et des techniciens de l'équipe (X. Capdevielle, O. Fabreguettes, M. Martin-Clotté et G. Saint-Jean). Je présente dans ce document la synthèse des principaux résultats obtenus dans ce programme.

Introduction

Systèmes hyperparasités

Les espèces parasites représentent une importante composante des communautés, quantitativement et qualitativement. Environ 30% des espèces d'eucaryotes vivent au dépend des espèces dites libres. Les parasites jouent un rôle crucial dans les communautés en modifiant directement ou indirectement le nombre de leurs espèces hôtes et en modifiant les interactions entre espèces (Bradley *et al.*, 2008). Ainsi les parasites participent activement aux mécanismes qui président à l'organisation et au fonctionnement des écosystèmes (Poulin, 1999; Price *et al.*, 1986). Ce rôle des parasites est d'autant plus complexe à étudier que les espèces parasites sont elles-mêmes parasitées par des hyperparasites, qui interviennent dans la succession des espèces et dans la résistance des communautés à une invasion biologique (Holt, Hochberg, 1998; Windsor, 1998; Gilbert, 2002). Les communautés devraient donc être perçues comme des assemblages d'espèces libres, parasites et hyperparasites liées par des interactions multiples. Chez les champignons, le pourcentage d'espèces parasites varie de 100% chez les Chytridiomycètes à 20% chez les Ascomycètes (de Meeus, Renaud, 2002). Sachant que les 1.5 million d'espèces décrites de champignons ne représentent que 10% des espèces et que de nouvelles espèces cryptiques de champignons pathogènes sont régulièrement révélées (Hawksworth, 2001), cette estimation est certainement sous-estimée.

Comme les parasites, les hyperparasites peuvent intervenir dans la succession des espèces et dans la résistance des communautés à une invasion biologique (Gilbert, 2002). Les systèmes hyperparasités sont plus particulièrement étudiés lorsque les hyperparasites sont utilisés pour réguler des populations de parasites. Ces méthodes de lutte biologique nécessitent une connaissance précise de la biologie des populations du parasite cible (indigène ou exotique) et de l'hyperparasite (indigène ou exotique). Il s'avère que le succès des introductions intentionnelles d'hyperparasites est faible (moins de 20% de réussite pour le contrôle des insectes et des plantes) mais cohérent avec les probabilités d'introduction et établissement d'une espèce exotique (Roderick, Navajas, 2003; Williamson, Fitter, 1996). Les interactions tritrophiques entre plante, pathogène et hyperparasite peuvent se prêter à des expérimentations permettant de tester l'effet de la taille des populations introduites, des traits d'histoire de vie ou de la diversité génétique des hyperparasites introduits pour réguler les populations hôtes, et ainsi aborder plusieurs questions d'écologie des invasions. Cependant, le succès à long terme ou la durabilité de ces méthodes de lutte biologique dépendent des effets de l'évolution et de l'adaptation, effets peu étudiés. Cette durabilité est liée, entre autres, à l'évolution de la virulence (c.a.d. de l'effet négatif causé par le parasite ou l'hyperparasite sur la fitness de son hôte) de l'hyperparasite et de la sensibilité du parasite (Holt, Hochberg, 1997; Hufbauer, Roderick, 2005).

Le chancre du châtaignier: une invasion biologique

Les invasions biologiques constituent l'une des principales causes de l'érosion de la biodiversité (Mack *et al.*, 2000; Pimentel *et al.*, 2000) et il y a désormais consensus parmi les scientifiques pour plaider pour de meilleures prise en compte et gestion de cette menace (Buckley, 2008). Au cours du 20^{ième} siècle, l'augmentation du commerce mondial et l'amélioration des moyens de transport se sont traduits par l'introduction de nombreux agents pathogènes, dont des champignons, dans plusieurs écosystèmes naturels. Alors que par suite d'une coévolution ancienne les champignons pathogènes coexistent dans leur aire d'origine en un équilibre stable avec leurs plantes hôtes, ils sont très agressifs du fait de l'absence de coévolution vis-à-vis des espèces hôtes, dites « naïves », qu'ils rencontrent dans leur nouvelle aire d'introduction (Parker, Gilbert, 2004). Leurs expansions se réalisent au détriment des communautés indigènes de plantes, soit en menaçant directement la pérennité des communautés de l'aire d'introduction (les forêts d'eucalyptus en Australie par exemple, où *Phytophthora cinnamomi* est responsable de la mortalité d'un très grand nombre de plantes hôtes (Weste, Marks, 1987)), soit en

modifiant fortement la composition et le fonctionnement de l'écosystème. Les invasions réalisées par *Cryphonectria parasitica* ont eu un tel impact (Anagnostakis, 1987).

C. parasitica est un Ascomycète responsable de la maladie du chancre du châtaignier. Il est originaire d'Asie (Chine et Japon) où il a coévolué avec les châtaigniers asiatiques (*Castanea crenata* et *C. mollissima*) sur lesquels il cause peu de symptômes. Ce champignon se développe dans les tissus corticaux du châtaignier et pénètre dans le xylème, provoquant des chancres corticaux et le dépérissement de la partie apicale (Fig. 1). Les spores asexuées (conidies ou pycnospores) et sexuées (ascospores) sont les principales propagules infectieuses. *C. parasitica* a eu un fort impact écologique dans ses aires d'introduction (Nord-est des Etats-Unis et Europe). Ce parasite est responsable de la quasi disparition du châtaignier américain (*C. dentata*) des forêts naturelles du Nord Est des Etats-Unis dont il était auparavant l'espèce dominante et qui sont désormais dominées par des chênes et liquidambars (Paillet, Rutter, 1989). En Europe, il a d'abord provoqué le dépérissement des châtaigneraies forestières ou fruitières, déjà bien fragilisées par la maladie de l'encre. Puis la sévérité de la maladie a été atténuée par un hyperparasite, un virus appelé *CryphonectriaHypovirus1* (ou CHV1) qui s'est naturellement disséminé dans les châtaigneraies européennes, diminuant fortement l'impact de *C. parasitica*. Suite aux travaux de Grente, le CHV1 a été utilisé comme agent de lutte biologique, en Europe mais principalement en France (Grente, 1981; Heiniger, Rigling, 1994). Des tentatives d'utilisation de cette méthode de lutte ont été également réalisées aux Etats-Unis mais ont toutes échoué (Milgroom, Cortesi, 2004). La maladie du chancre est cependant toujours en extension en Europe, et en particulier en France où elle est maintenant présente sur la quasi-totalité du territoire (P30).

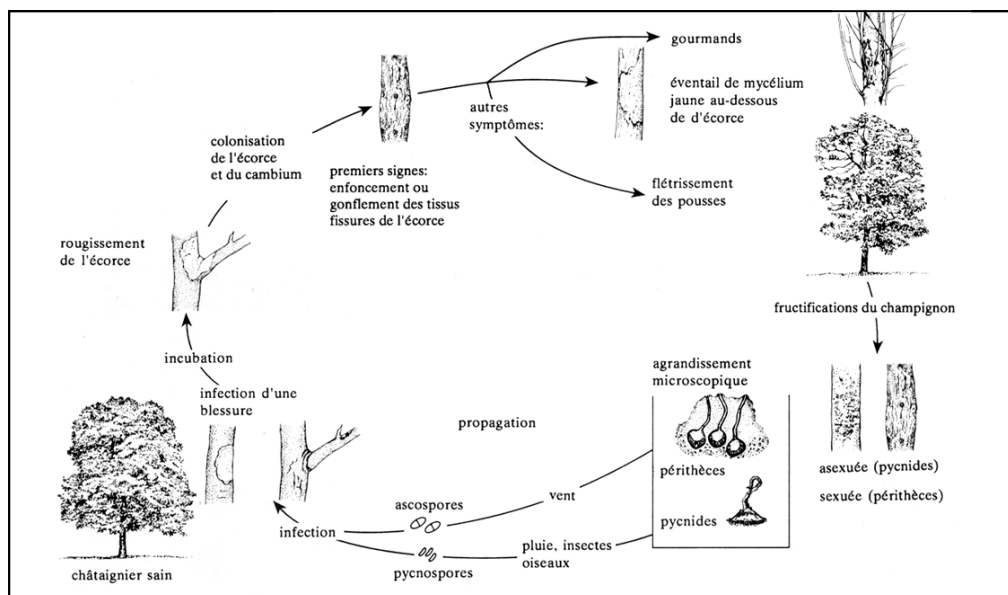


Figure 1. Cycle biologique de *Cryphonectria parasitica* (d'après U. Heiniger, dessin de V. Fataar)

Le CHV1 : un Hypovirus hyperparasite

Le CHV est un Hypovirus (Hillman *et al.*, 2000). Son nom vient du fait qu'il diminue la virulence de son champignon hôte, en provoquant une atténuation du pouvoir pathogène du champignon et de profondes modifications de sa physiologie et de son cycle biologique (Fig. 2). De plus, il modifie les capacités de sporulation et provoque la stérilité femelle des individus infectés. Il diffère par cela de la grande majorité des mycovirus qui sont avirulents et ne provoquent pas de modifications visibles de leurs hôtes (Buck, 1986). Il se transmet horizontalement, lors des fusions d'hyphes, et verticalement dans les conidies.

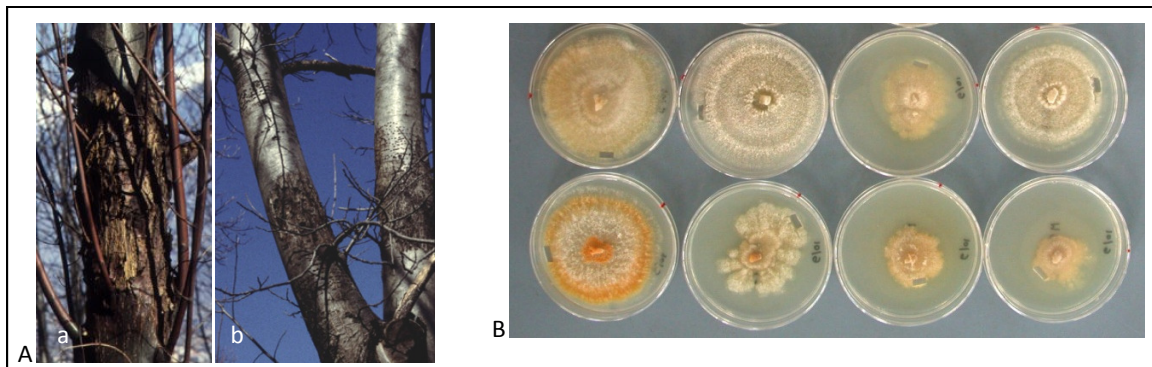


Figure 2 : Effets du CHV1 sur *C. parasitica* : A : diminution de l'agressivité a- chancre causé par *C. parasitica* non infecté par CHV1 provoquant la formation de rejets, un dysfonctionnement hydrique et la mort de la partie apicale, b- chancre causé par *C. parasitica* infecté par CHV1 limité aux assises superficielles de l'écorce; B : effet du virus sur le phénotype de *C. parasitica* : à gauche deux isolats non infectés, à droite ces mêmes isolats infectés par différentes souches de CHV1.

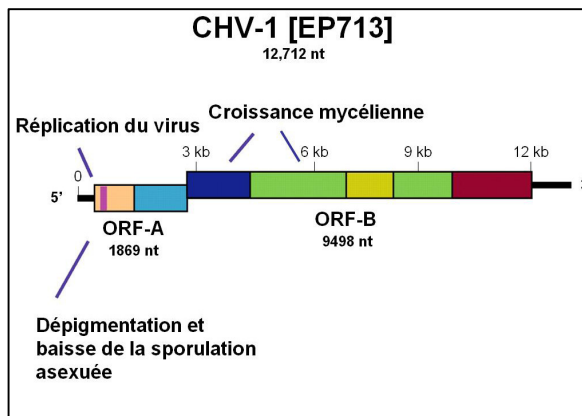


Figure 3: Organisation génomique du CHV1 (d'après Dawe et Nuss, 2001)

Le CHV1 est un virus à ARN double brin à réplication cytoplasmique, sans capsid et sans phase libre. Deux génomes complets du CHV1 ont été séquencés: un virus issu d'une souche de *C. parasitica* isolée en 1970 (Ep713) et un virus issu d'un isolat italien (Euro 7) plus récent (1978). Des différences de virulence entre les souches de référence ont été mises en évidence: les souches perturbent différemment les cascades signalétiques cellulaires, et ainsi le métabolisme fongique (Parsley *et al.*, 2002). La souche Ep713 est qualifiée de souche «sévère» du fait de sa forte virulence tandis que la souche italienne, d'agressivité plus faible, est qualifiée de « mild » (Chen, Nuss, 1999; Chen *et al.*, 2000; Choi, Nuss, 1992; Dawe, Nuss, 2001; Parsley *et al.*, 2002; Shapira *et al.*, 1991). Le génome viral (12712 nucléotides, queue poly-A exclue) comprend deux cadres de lecture: l'ORF A (1869 nt) et

l'ORF B (9498 nt, Fig. 3). L'ORF-A intervient dans l'inhibition de la sporulation asexuée, dans la dépigmentation du mycélium et dans la réplication du virus; l'inhibition de la croissance mycélienne et la réduction de la virulence du champignon semblent être dépendantes de l'ORF-B.

Axes de recherche

Les principales questions de recherches que j'ai abordées par l'étude de ce système hyperparasité, sont les suivantes :

- Quelle est la diversité génétique des populations de *C. parasitica* et de CHV1? Les études réalisées ont permis de formuler et tester des hypothèses concernant les voies d'introduction du champignon et de son mycovirus. Il est apparu que seules certaines lignées clonales, chez le champignon comme chez le virus, semblent avoir réussi localement les trois étapes des invasions.

- Quelle est la variabilité intraspécifique des traits liés à leur dissémination? Peut-on mettre en évidence des changements évolutifs de certains traits adaptatifs au cours des invasions?

- Comment estimer la transmission et la virulence de l'hyperparasite? Quels sont leurs déterminismes et comment évoluent-elles

Diversité génétique des populations

Du fait de la transmission horizontale du CHV1 lors de fusions somatiques, l'incompatibilité végétative, en intervenant dans le contrôle et le devenir de ces fusions, joue un rôle crucial dans l'interaction *C. parasitica*-CHV1. Ce système de reconnaissance aboutit à la définition de groupes de compatibilité végétative (GCV), qui constituent des marqueurs phénotypiques particulièrement pertinents pour l'étude de l'interaction *C. parasitica*-CHV1, puisque la diversité en GCV des populations de *C. parasitica* conditionne fortement la transmission du CHV1. Par ailleurs, ce système de reconnaissance soulève la question de l'individualité chez les champignons et de la reconnaissance du soi, questions abordées au cours de la thèse de J. Brusini (Encadré 1).

Diversité et richesse en GCV des populations de *C. parasitica*

Chez *C. parasitica* six gènes *vic* (cf encadré 1) ont été identifiés permettant la résolution de 64 GCV (Cortesi *et al.*, 2001). Mais cette estimation du nombre de gènes *vic* s'est avérée insuffisante pour expliquer la diversité des GCV chez cette espèce. En effet dans le Sud-ouest de la France nous avons détecté 57 GCV incompatibles avec les 64 testeurs européens (P8, P22). Il semblerait que des gènes *vic*, monomorphes dans les populations italiennes et suisses utilisées pour rechercher le déterminisme génétique des GCV par Cortesi *et al.*, soient polymorphes dans ces populations françaises. Le même raisonnement permet d'expliquer la forte diversité des GCV observée en Chine et Japon: aucun des isolats chinois parmi les 54 étudiés n'appartient à un des GCV européens, et seulement trois GCV, parmi les 71 mis en évidence au Japon, correspondent à un GCV européen (Liu, Milgroom, 2007). En collaboration avec M. Milgroom (Cornell University, Etats Unis) et K. Sotirovski (Skopje University, Macédoine), nous essayons actuellement de préciser le nombre des gènes *vic* impliqués en Europe dans la définition des GCV chez *C. parasitica*, en étudiant les descendance issues de croisements de différents GCV.

Les populations de *C. parasitica* ont été étudiées au cours de plusieurs années, dans les régions où le châtaignier est traditionnellement et économiquement important et où la maladie est ancienne: Sud-est (SE: de l'Ardèche jusqu'au Var), Corse (Cor), Sud-ouest (SW: Périgord, Béarn, Pays Basque et Pyrénées), mais également dans la zone d'émergence récente de la maladie (Nord: Centre et Alsace) (P8, P22, P25). L'effort d'échantillonnage a varié de 5 à 79 isolats étudiés par population. La richesse en GCV augmente avec la taille des populations étudiées, mais, à effort d'échantillonnage similaire, il existe une plus forte richesse en GCV en Dordogne (Fig. 4). Les populations composées d'un seul GCV sont pour la plupart localisées en Navarre, en Corse ou Sud-ouest ou dans la zone d'émergence récente de la maladie. Le plus souvent un à trois GCV regroupent plus de 80% des isolats d'une même parcelle (GCV dominants) et les autres GCV sont des GCV rares représentés par un ou deux des isolats étudiés.

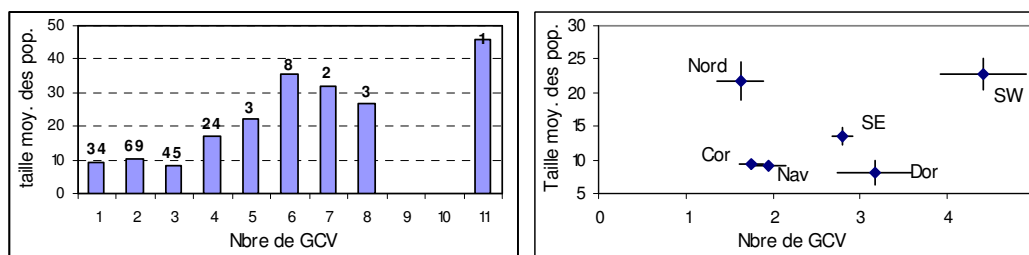


Figure 4 : richesse en GCV des populations françaises de *C. parasitica* en fonction du nombre d'isolats étudiés (avec au dessus des barres le nombre de populations) et en fonction des régions géographiques.

Encadré 1: les fusions somatiques et l'incompatibilité végétative: une caractéristique originale des organismes coloniaux et sessiles

Le mycélium des champignons filamenteux est un syncytium constitué par un réseau d'hyphes, qui se développe par croissance terminale et par ramifications, et au sein duquel les **fusions d'hyphes son fréquentes**. Ces fusions peuvent intervenir entre hyphes du même mycélium ou entre hyphes de mycéliums différents. Les groupes de compatibilité végétative (GCV) regroupent les individus pouvant établir entre eux des fusions somatiques stables. Les fusions cellulaires sont un mécanisme ubiquiste dans le règne vivant, mais les fusions somatiques sont observées dans quelques taxons uniquement (Fig. 1).

Un **système de reconnaissance** permet de limiter la fusion somatique entre différents génotypes (Debets *et al.*, 1994; Glass, Kaneko, 2003). Ce système permet à chaque mycélium de faire la distinction entre le soi (c.a.d. les hyphes issues de mycéliums identiques ou proches) permettant ainsi la fusion des deux thalles entrés en contact, et le non soi (c.a.d. les thalles produits par des individus génétiquement éloignés) débouchant sur le rejet de la fusion somatique. L'activation du système de reconnaissance du non-soi résulte de l'interaction de protéines incompatibles et déclenche la mort cellulaire des cellules en contact, qui est visible macroscopiquement par la formation d'une barrière d'incompatibilité (Glass, Kaneko, 2003). La mort cellulaire peut intervenir au bout d'un certain laps de temps durant lequel l'échange de matériel nucléaire et cytoplasmique serait temporairement possible (Biella *et al.*, 2002).

Un tel système de reconnaissance du non-soi permettant de contrôler les fusions somatiques a évolué dans quelques taxons uniquement (champignons, coraux, cnidaires, urochordés ..., Fig. 1). Tous ces systèmes reposent sur le même principe: la production par un ou plusieurs gènes très polymorphes de protéines capables de reconnaître des variants moléculaires et de déclencher une cascade signalétique. La caractéristique principale de ces systèmes est donc le **maintien d'une très forte diversité allélique**, caractéristique partagée avec les autres systèmes de reconnaissance tels que le système majeur d'histoincompatibilité des vertébrés, l'incompatibilité sexuelle des plantes ou des champignons (Richman, 2000).

Champignons et invertébrés marins présentent plusieurs similarités écologiques et biologiques: croissance modulaire et indéterminée associée à une reproduction clonale fréquente, **mode de vie sessile, hétérotrophique et colonial**.

L'incompatibilité végétative limitant les outbreedings et favorisant l'évolution de groupes isolés à l'intérieur de la même espèce constitue une composante importante de la dynamique des populations et de l'évolution de ces organismes. Leurs similarités écologiques suggèrent l'existence de forces évolutives communes conduisant au maintien simultané des fusions somatiques et de l'incompatibilité somatique. Ces **forces évolutives** résultent des avantages liés aux fusions somatiques (gain de surface d'échange mycélium/substrat, de surface de mycélium pouvant produire des spores, de diversité génétique) et aux risques (compétition intraspécifique, conflit génétique, transmission de mitochondries délétères, plasmides ou virus). Une étude bibliographique a été réalisée afin de mieux appréhender ces forces évolutives, qui ont conduit au maintien d'un système permettant aux organismes coloniaux et sessiles de conserver leur intégrité physique et/ou génétique vis-à-vis d'autres individus conspécifiques (P27).

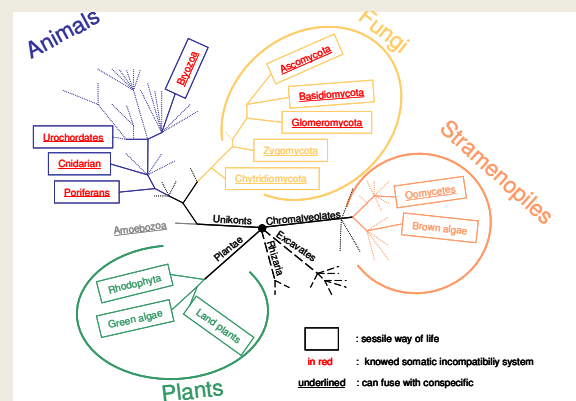


Figure 1: Fusions somatiques et incompatibilité dans le règne vivant, in Brusini *et al.* (P27).

Chez les Champignons, deux stratégies de maintien de la diversité génétique du système de reconnaissance ont évolué (Saupe, 2000). Chez les Basidiomycètes, la diversité génétique est créée par un faible nombre de loci (1 à 4 gènes *vic* ou *het*), extrêmement polymorphes. Ce système est similaire à celui existant chez les Invertébrés. Chez les Ascomycètes, un nombre plus élevé de loci (n_r , jusqu'à 11 chez *Podospora anserina* le plus souvent bi-allélique détermine un nombre élevé de GCV (2^{n_g}).

Des populations fongiques composées de lignées clonales dominantes

Il existe une étroite corrélation entre GCV et lignées clonales, définies par dix marqueurs microsatellites développés par C. Dutech (P16). Dans la grande majorité des cas (96%), les isolats de *C. parasitica* ayant le même génotype multilocus ont le même GCV. Ceci est en accord avec les résultats obtenus avec d'autres marqueurs et d'autres GCV pour les populations de *C. parasitica* en expansion dans le Sud-est de l'Europe et dominées par quelques lignées clonales (Milgroom *et al.*, 2008). Une telle association entre GCV et haplotypes a été également reportée pour d'autres Ascomycètes (Collado-Romero *et al.*, 2008; Grubisha, Cotty, 2010; Heilmann *et al.*, 2006). Chez *Ophiostoma novo-ulmi*, certains isolats partagent le même profil RAPD mais différent pour leur GCV, ce qui peut être interprété comme le signe d'une sélection positive pour les mutants *vic*, résultant de la pression exercée par le d-facteur, mycovirus des *Ophiostoma* (Pipe *et al.*, 1995).

Certaines lignées de *C. parasitica* sont dominantes au niveau de la parcelle et de la région. Ainsi parmi 276 isolats étudiés dans une parcelle située en Dordogne (St Cernin), 92 haplotypes ont été identifiés mais quatre lignées clonales dominantes (correspondant aux GCV EU-2, EU-33, EU-66, EU-72) regroupent 56% des isolats (P21). Les lignées clonales dominantes sont agrégées spatialement, en accord avec une multiplication asexuée fréquente résultant en la production de propagules infectieuses dispersées à faible distance. Cependant des cycles de reproduction sexuée peuvent aussi avoir lieu au sein d'une même lignée et ainsi augmenter sa fréquence. En effet, les deux types sexuels différents sont détectés au sein de ces lignées dominantes et parfois même les deux allèles MAT1-1 et MAT1-2, déterminant respectivement le type sexuel A1 et A2, sont présents au sein d'un même isolat (P21, P22, P24). L'existence d'isolats hétérocaryotiques possédant les deux allèles MAT1-1 et MAT1-2 a été mise en évidence chez *C. parasitica* décrit jusqu'alors comme hétérothallique (McGuire *et al.*, 2004). Des taux d'alofécondation variant de 0.74 à 0.97 ont été estimés pour quatre populations américaines et une population italienne (Marra *et al.*, 2004) mettant en évidence un système de reproduction mixte (à la fois hétéro- et homothallique) chez *C. parasitica*. Ceci est confirmé avec la population de St Cernin, pour laquelle le génotypage de 16 descendances sexuées nous a permis d'estimer un taux d'alofécondation de 0.64 (résultats non publiés).

Un déficit de recombinaisons est observé dans les populations étudiées, en particulier entre les lignées dominantes, et ce malgré l'existence des deux types sexuels de *C. parasitica* (P21, P24). Ce déficit de recombinaison est une caractéristique de la plupart des populations européennes (Braganca *et al.*, 2007; Hoegger *et al.*, 2000; Krstin *et al.*, 2008; Milgroom *et al.*, 2008; Sotirovski *et al.*, 2004), qui se distinguent des populations américaines et asiatiques, qui sont beaucoup plus diversifiées et se reproduisent par voie sexuée (Milgroom, Cortesi, 1999).

Plusieurs explications peuvent être avancées pour expliquer le nombre limité de recombinaisons observées entre lignées dominantes :

- la forte prévalence du CHV1 dans les populations diminue le taux de fécondité de *C. parasitica* en Europe: par exemple, dans la population de St Cernin, où la prévalence de *C. parasitica* est très forte (presque 100% d'arbres atteints), celle du CHV1 est également importante (détection dans 77% des chancre étudiés). L'hyperparasite peut dans ces conditions faire baisser fortement la fécondité moyenne des populations en provoquant la stérilité femelle et en diminuant fortement la production de conidies qui jouent le rôle de gamètes mâles

- l'agrégation spatiale des génotypes dominants et la faible capacité de dissémination des gamètes mâles diminuent les possibilités de recombinaison: il faut en effet que les conidies (disséminées par eau de ruissellement ou par éclaboussure) puissent fusionner avec des protopérithèces (gamètes femelles) de type sexuel compatible. Or, même si les infections multiples sont fréquentes (66% des chancre étudiés à St Cernin), la coexistence de plusieurs lignées dominantes au sein d'un même chancre n'a pas été observée

- les conditions climatiques en Europe sont défavorables pour la maturation et la germination des ascospores et donc l'installation de génotypes recombinants : en France le pic de libération des ascospores se situe en avril-mai (Guerin *et al.*, 2001) alors qu'aux Etats-Unis c'est en septembre-octobre (Root *et al.*, 2005). Ces différences dans la phénologie du champignon n'ont pas été expliquées jusqu'à présent et leurs conséquences pas étudiées.

- les génotypes recombinants sont maladaptés aux conditions environnementales locales, et leur fitness inférieure à celle des lignées dominantes. Cette hypothèse a été testée expérimentalement (cf § « variabilité des traits d'histoire de vie »).

Il est donc probable que la reproduction sexuée avec allofécondations ne soit pas possible ou très rare dans les populations européennes de *C. parasitica* ou/et que cette recombinaison ait lieu mais ne soit pas détectée du fait d'un échec d'établissement des génotypes recombinants. Des situations analogues sont rapportées chez d'autres champignons ou Oomycètes (Ehrlich *et al.*, 2007; Goss *et al.*, 2009). Par contre, des recombinaisons asexuées, par échange génétique lors des fusions d'hyphes, entre GCV différents, pourraient expliquer l'existence de multiples haplotypes rares différant de quelques locus des haplotypes dominants (McGuire *et al.*, 2005; Milgroom *et al.*, 2009). La coexistence de plusieurs génotypes au sein d'un chancre rend possible cette hypothèse, que nous testons actuellement expérimentalement.

Différenciation et origine des populations françaises de *C. parasitica*

Les études réalisées à l'aide des GCV tout d'abord dans le Sud-est de la France et en Dordogne (Fig.5), puis dans le Sud-ouest et la Navarre (Fig.6) ont mis en évidence la différenciation des populations de *C. parasitica* (P8, P22).

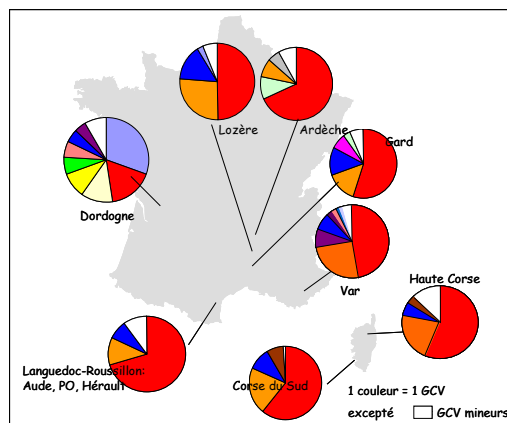


Figure 5. Distribution et fréquence des GCV de *Cryphonectria parasitica* en six régions de France. D'après Robin *et al.* 2000 (P8).

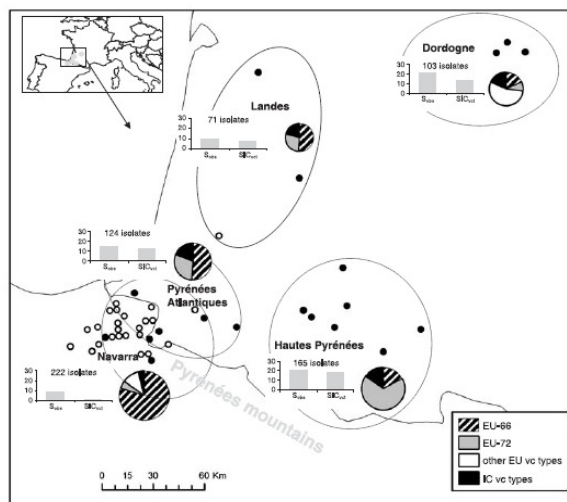
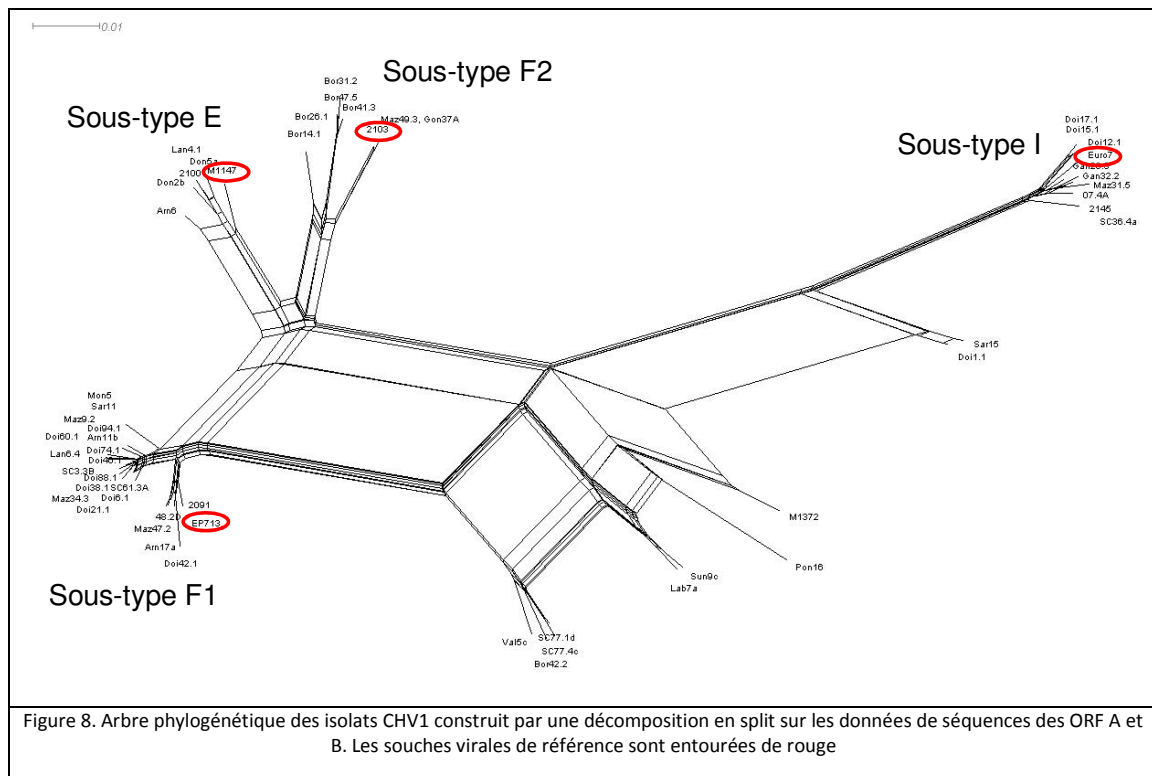


Figure 6. Diversité des GCV de *Cryphonectria parasitica* dans le Sud-ouest de la France. Subs: nb de GCV; SICvct: nb de GCV IC (incompatibles avec les testeurs européens EU-1 to -74). Les camemberts représentent la fréquence des GCV EU-66, EU-72, des autres GCV EU, et des GCV IC. In Robin *et al.* 2009 (P22).

Les populations Sud-est de la France sont similaires, en termes de GCV, à celles de l'Italie du Nord (première description de *C. parasitica* en Europe en 1938), de Suisse et du pourtour méditerranéen (P30, Fig. 7). Par contre les populations du Sud-ouest de la France diffèrent fortement par la présence de GCV particuliers. Nous avons donc émis l'hypothèse d'introductions de *C. parasitica* dans le Pays Basque et en Espagne lors des importations de châtaigniers asiatiques (résistants à l'encre) réalisées au début du 20ième siècle dans ces régions (P22). Suite à l'introduction de matériel végétal les différentes

Diversité génétique du CHV1 en France et Navarre

La diversité génétique des populations de CHV1 de Suisse et d'Italie a été caractérisée à l'aide de RT-PCR-RFLP puis par le séquençage d'une région de 298 nucléotides de l'ORFA (Allemann *et al.*, 1999; Gobbin *et al.*, 2003; Sotirovski *et al.*, 2006). Alors qu'un seul sous-type viral (sous-type italien «I», auquel appartient la souche Euro7) est largement disséminé sur toute une partie de l'Europe, quelques isolats français anciens (datant des années 70) ou récemment identifiés par notre équipe se sont révélés appartenir à des sous-types différents (F1, auquel appartient Ep713, et F2 (Allemann *et al.*, 1999)). Ces différentes lignées virales se seraient différenciées avant leur introduction en Europe (Gobbin *et al.*, 2003). Etant donné la spécificité des populations françaises de *C. parasitica* composées de GCV non identifiés ailleurs en Europe, j'ai voulu tester l'hypothèse d'introductions différentes du CHV1 dans ces régions. En effet, le CHV1 n'ayant pas d'autres hôtes connus que *C. parasitica*, son introduction en Europe est nécessairement liée à celles du champignon. L'étude des populations de CHV1 en France, initiée par R. Schafleitner au cours de son post-doctorat, à l'aide de marqueurs RFLP, a effectivement montré la diversité des populations françaises (P51). Ce travail a été prolongé par l'étude des séquences de l'ORFA du CHV-1 (69 séquences obtenues, données acquises en collaboration avec D. Rigling, WSL, Birmensdorf, Suisse) et de l'ORFB (64 séquences, données acquises par J. Brusini au cours de sa thèse, article en préparation).



Les mutations très fréquentes chez les virus à ARN, la recombinaison, la migration et la sélection sont les trois processus principaux intervenant sur l'évolution du CHV1 et il est difficile de les dissocier (Carbone *et al.*, 2004). L'analyse conjointe des séquences de l'ORFA et B (57 séquences, 55 haplotypes) confirment l'existence de quatre clusters I, F1, F2 et E, correspondant aux sous-types définis par Allemann *et al.*, et certainement issus d'événements de recombinaison anciens (Fig. 8). Cependant, des événements de recombinaison plus récents sont décelés aussi bien au sein d'un ORF qu'entre ORF.

Certains sous-types du CHV1 apparaissent associés à certains pools génétiques de *C. parasitica* (Fig. 8). Les isolats viraux des clusters F1, F2 et E sont pour la plupart associés aux introductions de *C. parasitica* dans les Pyrénées françaises ou espagnoles, directement de Chine et Japon. Le sous-type I distribué en France uniquement dans le Sud-est et dans une grande partie de l'Europe, est quant à lui associé au pool « italien », issu d'une introduction par les Etats-Unis. Cette différenciation des populations de CHV1 suggère une faible transmission entre populations de *C. parasitica*, cependant des migrations à longue distance sont parfois observées et peuvent s'expliquer par l'utilisation de certaines souches de *C. parasitica* hypovirulentes comme agents de lutte biologique. En Dordogne, les différentes lignées virales coexistent de la même façon que les différents pools génétiques de *C. parasitica*.

Traits d'histoire de vie et succès invasif

De nombreuses théories ont été développées pour tenter d'expliquer le succès invasif de certaines espèces exotiques introduites dans une nouvelle aire. Trois scénarios ont été identifiés (Facon *et al.*, 2006):

- dès qu'il y a introduction de la nouvelle espèce celle-ci s'établit et se répand dans son nouvel environnement, auquel elle est déjà adaptée
- une modification de l'environnement est nécessaire à l'établissement et l'invasion de la nouvelle espèce
- un changement évolutif de l'espèce introduite est nécessaire à son établissement

Dans deux scénarios la réussite dépend donc étroitement des caractéristiques génétiques et phénotypiques de l'espèce invasive, ce qui soulève deux questions. Existe-t-il des traits d'histoire de vie qui permettraient d'expliquer pourquoi certaines espèces (ou sous-espèces ou individus) sont invasives et d'autres pas ? Peut-on mettre en évidence des changements évolutifs au cours de l'invasion ?

La première question a été formulée et étudiée spécifiquement pour les champignons pathogènes forestiers (Encadré 2). Nous avons également étudié le rôle des traits d'histoire de vie dans le succès invasif de *C. parasitica* et du CHV1. La connaissance de la dynamique évolutive de *C. parasitica* au cours de l'invasion est nécessaire pour expliquer les invasions anciennes réalisées par ce champignon mais aussi pour pouvoir prédire au mieux les nouvelles émergences de la maladie du chancre. Nous avons donc étudié la variabilité génétique existant chez *C. parasitica* pour plusieurs traits d'histoire de vie et caractérisé la fitness des populations introduites par rapport à celles de l'aire d'origine, et celle des lignées clonales dominantes par rapport aux rares.

Le choix des souches virales les plus performantes comme biopesticides nécessite de connaître la variabilité intraspécifique de la virulence et la transmission. Pour étudier quels traits du virus et quelles caractéristiques de leurs introductions permettent leur établissement dans une population parasite théorique, nous avons développé un modèle épidémiologique de type SIR (Susceptible-Infectious-Removed, P20).

Variabilité des traits d'histoire de vie chez C. parasitica

Alors que la diversité génétique de *C. parasitica* a été beaucoup étudiée en Europe et aux Etats-Unis, aucune étude n'a porté jusqu'à présent sur la variabilité des traits d'histoire de vie chez ce champignon. Or le succès invasif d'une espèce, une fois introduite dans une nouvelle aire, dépend de l'existence de variation génétique sur laquelle la sélection peut agir. J'ai initié, avec l'aide d'étudiants en Master2, une série de travaux portant sur ce sujet afin d'explorer la variabilité intraspécifique de différents traits à différents niveaux (aires de distribution, populations, lignées clonales) et d'étudier les processus évolutifs à l'œuvre au cours des invasions et de *C. parasitica*.

Encadré 2. Prédire le caractère invasif chez les champignons invasifs.

Bien que rarement considérés en écologie des invasions, les champignons pathogènes fournissent de nombreux **exemples d'invasion biologiques** (P18). Cependant, aucune étude dédiée aux facteurs liés au succès invasif n'avait été réalisée avant la constitution d'une base de données compilant les espèces de champignons phytopathogènes forestiers présentes en Europe et certains d'histoire de vie (P23).

Le **succès invasif** d'une espèce est généralement défini comme le franchissement de plusieurs étapes :

- i) l'introduction dans une région géographiquement éloignée de l'aire naturelle de l'espèce,
- ii) l'établissement, et le développement localisé d'une population se reproduisant naturellement
- iii) l'expansion permettant le développement de plusieurs populations, au détriment des communautés indigènes.

A priori, les champignons phytopathogènes, comme l'illustre *C. parasitica*, présentent plusieurs particularités leur conférant de **bonnes aptitudes** pour le franchissement de ces trois étapes :

- des introductions par le biais de plants : ainsi *C. parasitica* a été introduit du Japon vers les Etats-Unis lors de l'importation de plants de châtaigniers asiatiques dans des jardins botaniques au début du 20^{ème} siècle (Anagnostakis, 1987). Le développement du commerce international n'a fait qu'augmenter les risques d'introductions, fortuites et non intentionnelles, de champignons pathogènes.
- des formes de dispersion, des formes quiescentes de conservation et un cycle infectieux de courte durée, souvent mixte, au cours duquel un nombre important de spores asexuées sont produites: ces traits confèrent l'aptitude à s'installer durablement dans un nouvel environnement et de s'y multiplier. Ainsi en conditions favorables, les génotypes introduits de *C. parasitica* sont multipliés de façon asexuée, et en conditions défavorables, ils peuvent survivre sous formes de latence ou de dormance ou donner naissance à de nouveaux génotypes par reproduction sexuée. De plus, ce dernier mode de reproduction assure souvent chez les champignons les fonctions de dispersion à longue.
- la capacité à exploiter des ressources diversifiées (gamme d'hôtes large) ou modes de vie variés (du saprophytisme au biotrophisme). *C. parasitica* a une

gamme d'hôtes est limitée aux Fagacées, mais se développe à la fois comme parasite et comme saprophyte (Prospero *et al.*, 2006).

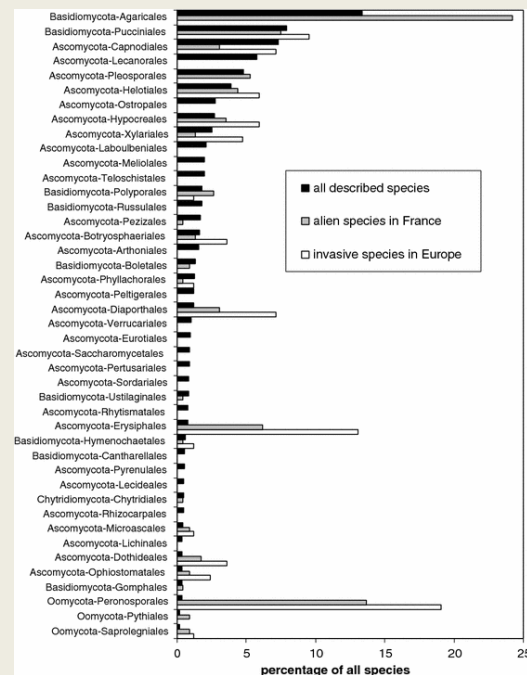


Figure II. Distribution des espèces dans les principaux groupes d'eumycètes et d'Oomycètes. In Desprez-Loustau *et al.* 2010 (P23).

Dans la liste des champignons exotiques introduits en Europe, certains **taxons phylogénétiques sont surreprésentés** (Péronosporales et Erysiphales), suggérant l'importance de certains traits d'histoire de vie pour l'introduction (Figure II).

La comparaison d'espèces pathogènes forestiers invasives et d'espèces non invasives (car interceptées ou non établies) a permis de mettre en évidence le rôle particulier des traits associés à **dispersion à longue distance, la reproduction sexuée, la taille et le nombre de spores et le degré de spécialisation parasitaire** (plantes hôtes et organes infectés) dans le succès invasif lié au franchissement des deux dernières étapes (P29).

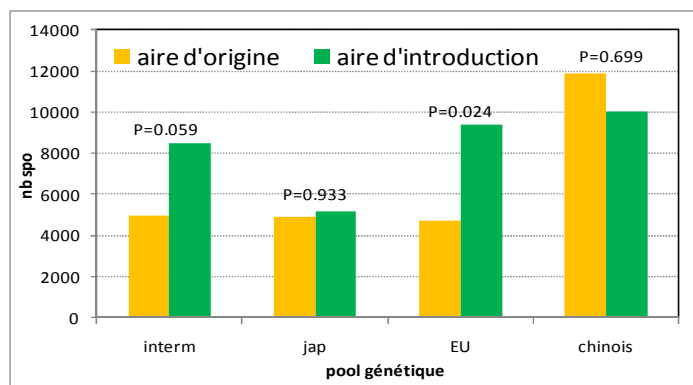


Figure 9 : Aptitude à la dispersion des isolats de *C. parasitica* de l'aire d'origine et de l'aire d'introduction pour chacun des pools génétiques (P=probabilité de rejet de l'hypothèse aire d'origine= aire d'introduction).

Les quatre pools génétiques de *C. parasitica* se sont avérés peu variables pour les traits associés à la croissance (*in vitro* à différentes températures, et *in planta*). Seul le trait associé à la dispersion (nombre de spores émises) permet de mettre en évidence une variation intra spécifique significative entre pools génétiques (Fig. 9). Dans deux sous-populations (pools intermédiaire et américain), les isolats qui se sont établis dans l'aire d'introduction ont une meilleure aptitude à la dispersion que les isolats de l'aire d'origine, ce qui peut suggérer une sélection pour la

dispersion au cours de l'invasion. Par contre, la plus forte sporulation des isolats d'origine chinoise introduits en France ne résulterait pas d'un changement évolutif, car les isolats de l'aire d'origine sporulent autant. Ainsi, pour mettre en évidence d'éventuels changements évolutifs postérieurs à l'introduction de *C. parasitica* en Europe et en France, il est nécessaire de connaître avec précision la structure et variabilité des populations dans les aires d'origines, (Keller, Taylor, 2008). Cette connaissance est partiellement acquise pour *C. parasitica* mais elle demande à être confirmée avec un échantillonnage plus large des populations asiatiques et d'autres marqueurs moléculaires.

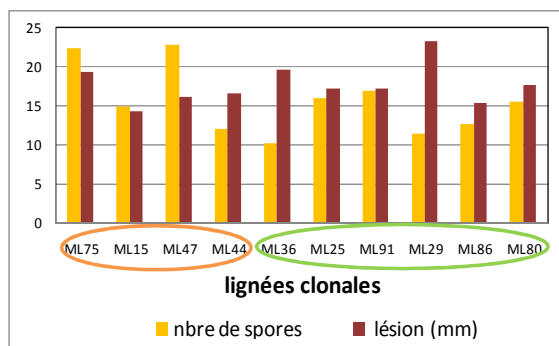


Figure 10. Sporulation (nombre de spores produites par μ l de suspension) et pouvoir pathogène (longueur de lésion induite après inoculation) de lignées clonales de *C. parasitica* dominantes (en orange) ou rares (en vert) dans la parcelle de St Cernin.

Dans la population de St Cernin, il n'a pas été possible de discriminer de façon significative les lignées dominantes par leur capacité à exploiter les ressources (*in vitro*, à différentes températures ou *in planta*) ou par leur capacité à la dispersion, même si deux des lignées dominantes étudiées se caractérisent par une plus forte sporulation (Fig. 10). La fréquence de certaines lignées au sein de cette population n'est donc pas liée à une plus forte fitness liée aux traits étudiés. Cependant, une caractérisation plus précise de la croissance en fonction des conditions climatiques (une interaction lignée * température significative a été mise en évidence sur la croissance *in vitro*) et des conditions physiologiques de l'hôte (la variabilité saisonnière de la sensibilité du châtaignier a été mise en évidence, P12) serait nécessaire.

La fitness des individus fongiques dépend de leur infection par le CHV1 et du sous-type viral. Ainsi l'infection par le CHV1 résulte en une modification importante des relations de compétition entre lignées de *C. parasitica* (Fig. 11). Lorsque les isolats de *C. parasitica* ne sont pas infectés par le CHV1, les différentes lignées coexistent dans les lésions induites expérimentalement par l'inoculation d'un mélange de deux, trois ou quatre isolats. Mais lorsque les isolats sont virosés, le pouvoir compétitif des lignées est fonction du CHV1 qui les infecte. Les lignées infectées par un virus de type F (en l'occurrence les lignées dominantes) sont dominées par les lignées infectées par des virus de type I. Le CHV1 cause donc des

modifications importantes dans les rapports existant entre les différents génotypes de *C. parasitica* dans une population.

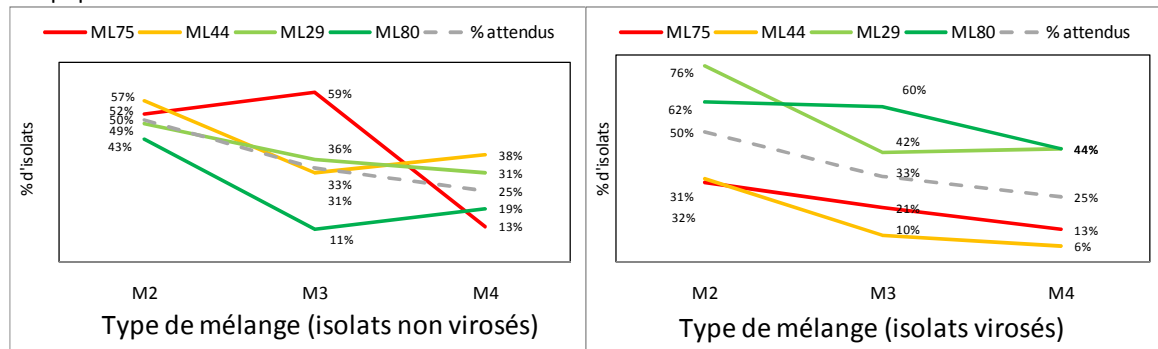


Figure 11. Compétition entre lignées clonales de *Cryphonectria parasitica* dominantes (ML75 et ML44) et lignées rares (ML29 et ML80) : % de réisolement de chaque lignée après inoculation de mélanges de deux, trois ou quatre (M2 à M4) isolats non virosés ou virosés.

Variabilité des traits d'histoire de vie chez le CHV1

Des différences significatives de transmission horizontale du CHV1 ont été mises en évidence entre les différents sous-types viraux (Fig. 12), indiquant ainsi que ce mode de transmission du virus ne dépend pas uniquement des populations du champignon, ce qui était jusqu'à présent admis. Nous avons également confirmé les différences de transmission verticale (% de spores asexuées infectées par le virus dans la sporée produite par le champignon virosé) entre les différents sous-types viraux (Fig.12, P25), confirmant ainsi les résultats obtenus avec la souche Ep713 et des isolats viraux du type I (Peever *et al.*, 2000). Ces différences de transmission horizontale et verticale pourraient être liées à des différences d'infection (donc de charge virale) et de réplication virale. Les sous-types I pourraient se multiplier plus rapidement que les F dans les cellules fongiques ce qui se traduirait par des transmissions plus importantes.

La virulence du virus a été mesurée en quantifiant la diminution de l'agressivité du champignon sur le châtaignier et la diminution de sporulation induite par le virus sur le champignon. (Fig. 12).

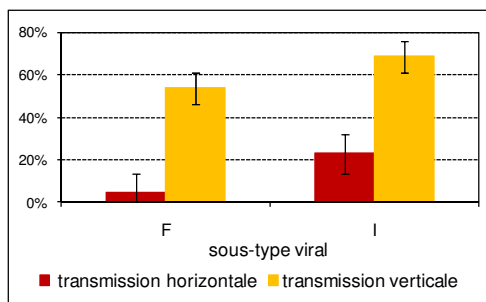


Figure 12. Transmissions horizontale et verticale moyennes pour les deux sous-types (Brusini, 2009).

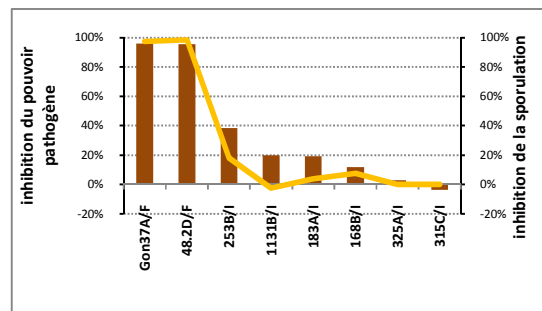


Figure 13. Virulence de différents isolats viraux : effets moyens sur le pouvoir pathogène et sur la sporulation de *Cryphonectria parasitica* (d'après Robin *et al.* 2010).

Ces résultats conduisent aux mêmes conclusions : les souches virales de type F se caractérisent par une plus forte virulence vis-à-vis de *C. parasitica* mais aussi par une plus faible transmission, verticale et horizontale, que les souches de type I.

Les facteurs explicatifs de l'établissement du CHV

Les modèles de type SIR permettent de modéliser les dynamiques temporelles des hôtes sains (S), des hôtes infectés et transmettant horizontalement leur agent pathogène (I) et des hôtes ne pouvant plus être infectieux (morts ou ayant acquis une immunité totale, R). Nous avons transformé ce modèle en un modèle SIRH, en ajoutant un compartiment : celui des hôtes infectés par un pathogène hyperparasité (H, Fig 14).

Dans le cas d'une dynamique sans installation de l'hyperparasite, il y a extinction des arbres I et donc du parasite. Ceci illustre l'effet pléiotropique de l'hyperparasite : en diminuant la virulence du parasite l'hyperparasite permet son maintien dans la population d'hôte (Michalakis *et al.*, 1992).

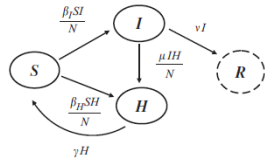
L'établissement de l'hyperparasite dans la population parasite dépend de deux conditions reliant les traits biologiques (transmission : paramètres β_H et β_I , et virulence : paramètres ν et γ) des deux parasites :

$$\gamma/\beta_H + (\gamma\beta_I/\beta_H - \nu)/\mu < 1 \text{ et } \gamma/\beta_H < 1$$

Pour une population parasite donnée, le succès d'une invasion par un hyperparasite dépend de son taux de transmission verticale et de sa virulence: les virus ayant adopté une stratégie parasitaire qui allie une faible virulence et forte transmission verticale sont les seuls susceptibles de s'installer. Les simulations réalisées montrent également que le succès de la lutte biologique, dépendant de l'installation durable du CHV1, dépend de la fréquence des traitements, et donc du nombre de souches virosées introduites dans la parcelle. Cet effet est analogue à l'effet « propagule pressure » qui a été suggéré comme facteur explicatif du succès invasif (Lockwood *et al.*, 2005).

Une expérimentation destinée à tester l'effet de la souche virale sur l'établissement de l'hypovirulence en conditions forestières, a permis de confirmer que l'utilisation de souches virales de type I permettait l'établissement de l'hypovirulence, mais que les souches de type F ne s'installaient pas (Convention DERF 2002-2003).

Nous avons également confirmé les prédictions du modèle SIRH par le suivi à long terme d'essais de lutte biologique localisés dans Var en 1975 (P25). Vingt-cinq ans après l'introduction de souches hypovirulentes de *C. parasitica* (infectées par un type F) dans des parcelles de châtaignier, nous avons caractérisé les populations de CHV1 (marqueurs RFLP) présentes dans ces parcelles à des populations issues d'un verger où la lutte biologique est pratiquée tous les ans ou de taillis où aucune lutte biologique n'a été réalisée. Seuls des virus CHV1 de type I ont été détectés dans les trois types de populations, démontrant ainsi que les virus introduits artificiellement ne se sont pas établis et ont été remplacés par les virus de type I, qui se propagent naturellement dans cette région.



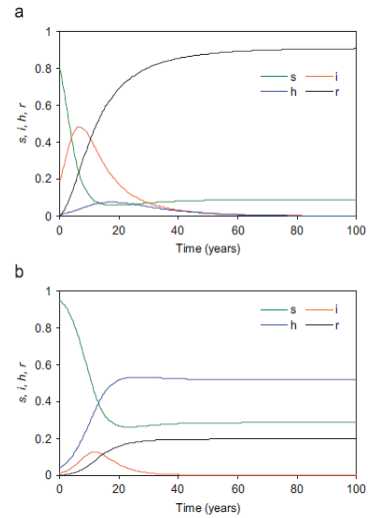
$$\frac{dS}{dt} = -\beta_I \frac{SI}{N} - \beta_H \frac{SH}{N} + \gamma H,$$

$$\frac{dI}{dt} = \beta_I \frac{SI}{N} - \mu \frac{IH}{N} - vI,$$

$$\frac{dH}{dt} = \beta_H \frac{HS}{N} + \mu \frac{IH}{N} - \gamma H,$$

$$\frac{dR}{dt} = vI.$$

Représentation schématique et équations du modèle SIRH décrivant le système hyperparasité : S : châtaigniers sains, I : châtaigniers infectés par un champignon non virosé, H : châtaignier infecté par un champignon virosé, R : châtaigniers morts.



Dynamique temporelle de l'interaction châtaignier-*C. parasitica*-CHV1, en terme de densités relatives, dans des conditions conduisant (a) à l'extinction du champignon et (b) à l'établissement du virus.

B- Définition et estimation des paramètres utilisés dans les simulations :

Parameter	Parameter meaning	Estimated value ^a	References ^b
β_I	Horizontal transmission of the hyperparasite-free parasite	0.5	Jacobs and Severeid (2004)
v	Disease-induced mortality rate	0.1	Kuhlman (1983), Griffin et al. (1983), Bissegger et al. (1996)
$\beta_H = k\beta_I$	Horizontal transmission of the hyperparasite-free parasite, strongly dependent on the vertical transmission of the hyperparasite	$k = 0.9$ for CHV1-I = 0.7 for CHV3 = 0.2 for CHV1-F1	Russin and Chain (1984), Melzer et al. (1997), Peever et al. (2000), Hoegger et al. (2003), Prospero et al. (2006)
γ	Recovery rate	0.5 for CHV1-F1 0.1 for CHV3 and CHV1-I	Grente (1981), Fulbright et al. (1983)
$\mu = p\beta_H$	Horizontal transmission of the hyperparasite, strongly dependent on the structure of parasite population	$0 < p \leq 1$	Cortesi et al. (2001)

^aVariables in Eqs. (1)–(4) are dimensionless, and the units for all parameters are yr⁻¹.

^bParameter numerical values were estimated using and compiling information from the cited references.

Figure 14 : Description du modèle SIRH (in Morozov *et al.*, P20).

Transmission et virulence du CHV1

La transmission inter-hôtes est d'une importance cruciale dans l'écologie des maladies (Archie *et al.*, 2009). Pour les maladies infectieuses comme pour la maladie du châtaignier, le taux de transmission horizontale est un paramètre clé (Liu *et al.*, 2000; McCallum *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 1998) (P20). La transmission dépend du nombre et de la durée des contacts entre différents hôtes, de la prévalence du parasite dans la population et de la probabilité de transmission. Ainsi, la transmission du CHV1 inter-hôtes nécessite le contact entre deux isolats, un infecté et un sain. Cette probabilité de rencontre dépend des rencontres mycélium-mycélium mais aussi des rencontres spores-mycélium. Par ailleurs la transmission horizontale du CHV1 a été jusqu'à présent uniquement étudiée *in vitro*. Nous avons donc voulu réexaminer à la fois la possibilité de transmission du CHV1 entre spores et mycélium, et la réalité de cette transmission *in planta*.

Quelles sont les conséquences d'une transmission horizontale peu contrainte par l'incompatibilité végétative sur la diversité en GCV des populations hôtes ? Des simulations fournies par un modèle épidémiologique ont permis d'apporter des éléments de réponse à ces questions.

La transmission est par ailleurs liée à la virulence, autre paramètre clé dans l'évolution des interactions hôte-parasite. Comprendre comment évolue la virulence des parasites représente un challenge pour les biologistes évolutifs mais aussi les gestionnaires chargés de développer des méthodes de lutte et de conservation des espèces. Parmi les différents modèles proposés, celui du « trade-off » entre virulence et transmission est le plus souvent cité et repris souvent sans cependant avoir été confirmé expérimentalement (Alizon *et al.*, 2009). Selon ce modèle, la sélection favorise une virulence intermédiaire car une forte virulence est à la fois bénéfique (une augmentation de la virulence permet une meilleure exploitation de l'hôte par le parasite et par là une transmission élevée) et néfaste (les parasites les plus virulents sont moins bien transmis car ils provoquent la mortalité de leur hôte trop rapidement). Une étude des interactions génotypiques entre *C. parasitica* et le CHV1 a été réalisée pour essayer de valider ou non ce modèle d'évolution de la virulence pour cette interaction, et mieux comprendre comment peut évoluer la virulence de cet hyperparasite.

Transmission horizontale du CHV1 in planta

Les études menées *in vitro* concluent toutes sur une transmission du virus fortement réduite ou même impossible entre deux GCV différents (Cortesi *et al.*, 2001; Papazova-Anakieva *et al.*, 2008). Cependant, plusieurs résultats expérimentaux (Grente, 1981, P25) et les études de coalescence réalisées sur des populations virales réalisées (Carbone *et al.*, 2004) suggèrent que la dissémination du virus par transmission horizontale entre GCV différents est faiblement contrainte par l'incompatibilité végétative. Par ailleurs, alors que la transmission horizontale est traditionnellement décrite entre deux mycéliums, d'autres observations suggèrent que la transmission peut avoir lieu entre une spore infectée, qui serait déposée sur un chancre, et le mycélium présent dans ce chancre (Hoegger *et al.*, 2003).

Nous avons développé une méthode de confrontations entre mycéliums et spores et mycélium, sur tiges excisées de châtaignier (article en préparation). Il s'avère que la transmission du CHV1 entre GCV différents se réalise avec des taux similaires lorsque la propagule donneuse est une spore ou du mycélium. Cette transmission « oblique » faisant intervenir à la fois la transmission verticale et la transmission horizontale, est fréquente en conditions naturelles ainsi que l'a montré le suivi de lésions induites artificiellement.

Par ailleurs, le taux de transmission *in planta* s'avère nettement plus élevé que celui observé *in vitro*, ou celui prédit en utilisant le modèle de Cortesi *et al.* (2001) obtenu d'après des mesures *in vitro* : le CHV1 est transmis *in planta* dans différents GCV alors qu'il ne l'est pas ou avec des taux proches de 0 *in vitro* (Fig. 15, article en préparation).

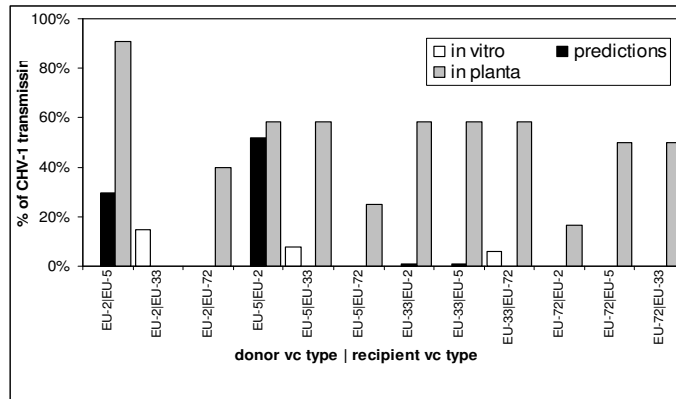


Figure 15. Transmission du CHV1 entre un GCV donneurs et receveurs de *C. parasitica* de GCV different: taux mesurés *in vitro* et *in planta* et taux prédits par le modèle de Cortesi *et al.* (2001, non disponible pour le GCV EU72).

Cette approche expérimentale a été complétée par J. Brusini par l'étude de la population de CHV1 de St Cernin: le séquençage de l'ORFA et B a permis de démontrer que les différentes sous-types viraux du CHV1 étaient transmis inter GCV (Brusini 2009).

L'incompatibilité végétative ne constitue donc pas une barrière infranchissable pour la transmission du virus entre GCV. La perméabilité de la barrière d'incompatibilité pourrait s'expliquer par le laps de temps qui s'écoule entre le contact de deux hyphes et le déclenchement de la réaction d'incompatibilité (Biella *et al.*, 2002). Ce laps de temps représente la période au cours de laquelle l'infection est possible. Cette durée d'exposition peut être considérée comme infinie (ou très longue) lorsque les deux hyphes fusionnent en un hétérocaryon stable (GCV identiques) et très courte lorsque la réaction d'incompatibilité végétative est rapidement déclenchée (GCV différents par plusieurs gènes *vic*).

Pression parasitaire et maintien du polymorphisme

La perméabilité de la barrière de l'incompatibilité végétative pourrait remettre en cause certains résultats théoriques obtenus avec des modèles théoriques qui décrivent la transmission horizontale des parasites cytoplasmiques délétères (Nauta, Hoekstra, 1994; Nauta, Hoekstra, 1996). Dans ces modèles, le CHV1 diminuant la fitness de son champignon hôte et se transmettant horizontalement uniquement au sein d'un GCV ou entre GCV très proches, exerce une pression de sélection dépendante de la fréquence : les GCV rares n'étant pas infectés sont favorisés car peu ou pas infectés, mais ces GCV rares augmentent en fréquence dans la population et perdent ainsi cet avantage. Une telle pression de sélection exercée indirectement par le parasite par un effet dépendant de la fréquence, devrait résulter, pour des populations en équilibre démographique, en des GCV de fréquences similaires.

Nous avons développé un modèle mathématique pour étudier l'effet de la perméabilité de la barrière de l'incompatibilité végétative, sur la diversité en GCV des populations hôtes. Ce modèle est paramétré pour décrire la transmission du CHV1, ou d'un autre élément cytoplasmique délétère, de façon horizontale entre GCV identiques et/ou différents (avec des taux différents) et de façon verticale dans les

spores asexuées, et ce dans une population clonale d'un Ascomycète composée de GCV de fitness différente.

La présence du virus s'avère nécessaire pour le maintien de la diversité des GCV. Sans le parasite, il y a exclusion compétitive exercé par l'un des GCV sur les autres (Fig. 16). Malgré la perméabilité de la barrière de l'incompatibilité, la pression parasitaire est suffisante pour maintenir la diversité des GCV du champignon. Cependant, pour que plusieurs GCV soient maintenus à l'équilibre, il faut que la transmission intra GCV (β_{ii}) soit supérieure à la transmission inter GCV (β_{ji}) : il y a ici une analogie avec le modèle de compétition entre espèces de type Lodka-Volterra (Holt, Pickering, 1985), qui montre que la coexistence entre espèces est possible si la compétition intra spécifique est supérieure à la compétition interspécifique.

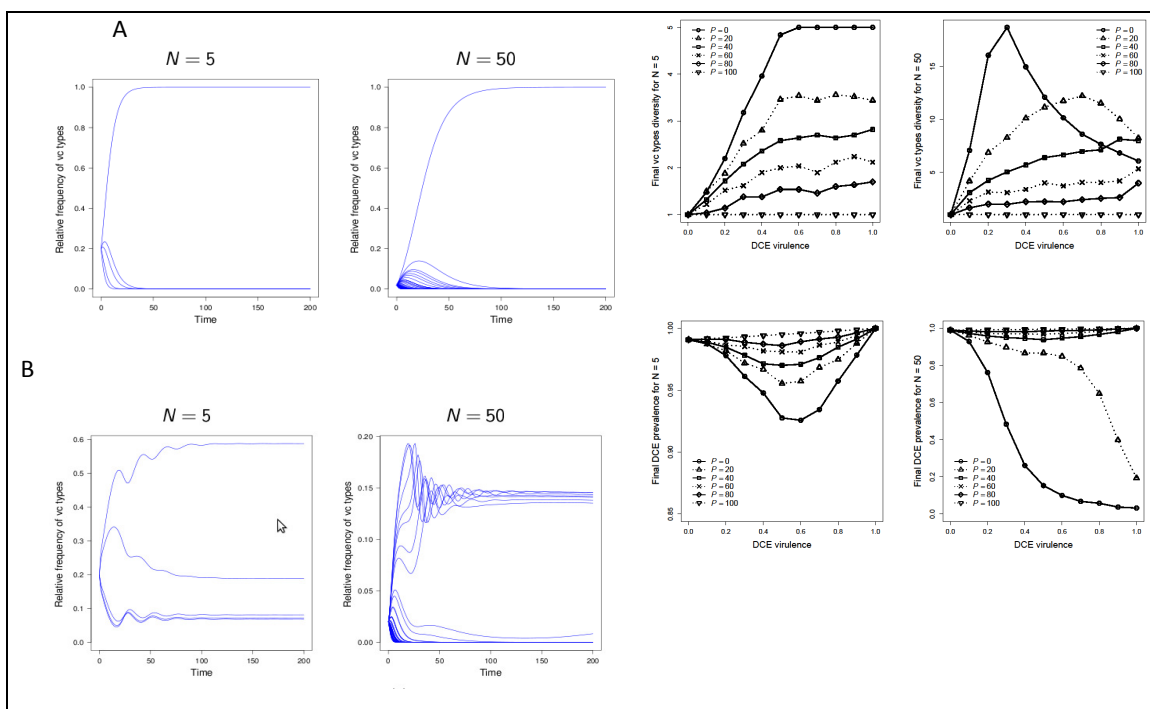


Figure 16 . Maintien de la diversité en GCV pour des populations d'un champignon composées de N=5 GCV ou N= 50, avec (A) et sans(B) prévalence d'un virus. Chaque courbe représente un GCV de la population, in Brusini *et al.* (P28).

Figure 17. Evolution de la diversité en GCV des populations fongiques à l'équilibre et de la prévalence finale du virus en fonction de sa virulence du virus (DCE=Deleterious Cytoplasmic Element) et du pourcentage (P) de couples de GCV pour lesquels la transmission inter est égale à la transmission intra-GCV, in Brusini *et al.* (P28).

Par ailleurs, les simulations montrent que le nombre de GCV maintenus dans la population fongique dépend de la virulence du parasite cytoplasmique. Au-delà d'un certain seuil, le nombre de GCV augmente avec la virulence, puis diminue du fait de l'échec de transmission lié à la trop forte virulence du virus qui provoque son extinction. Ce compromis entre virulence et prévalence du virus s'observe d'autant plus que les populations fongiques sont initialement riches en GCV et lorsque la perméabilité est faible (cad quand la transmission interGCV est égale à la transmission intra GCV pour moins de 20% des paires de GCV, Fig. 17). Dans les populations à forte diversité initiale (N=50), la prévalence du virus diminue fortement avec la virulence du virus et la perméabilité. Celle-ci permet donc de maintenir la pression parasitaire et donc la diversité en GCV.

Coévolution champignon-virus

Pour étudier les interactions génotypiques champignons – virus, nous avons réalisé une inoculation croisée de six souches monospores de *C. parasitica* par six virus CHV1. Les six souches fongiques provenaient de six isolats hypovirulents tous de même GCV (EU-2) et même lignée clonale. Les virus de ces isolats ont été transmis aux six souches. Trois virus appartenait à un sous-type F, identifié par séquençage de l'ORFB et trois autres au sous-type I. Les 36 associations souche-virus ainsi créés peuvent être séparées en trois types d'association : P : lorsque le virus de l'isolat parental infecte la souche fille, R : lorsque un virus apparenté à celui de l'isolat parental infecte la souche fille ou N : lorsque le virus est non apparenté à celui de l'isolat parental. Plusieurs résultats originaux ont été obtenus concernant le nombre et la taille de spores produites par ces associations, et la transmission du virus (article en préparation) :

- la sporulation est contrôlée à la fois par le champignon et par le virus (effet significatif de l'hôte, du parasite et de l'interaction sur la production de spores). Ce trait peut être considéré comme un phénotype étendu puisqu'il est défini à la fois par le phénotype de l'hôte et du parasite (Lambrechts *et al.*, 2006)

- une variabilité significative de la taille des spores produites par les champignons infectés est observée en fonction du sous-type viral: les virus les plus virulents inhibent plus fortement la production de spores mais celles-ci sont plus grosses que celles produites par les champignons infectés par des virus peu virulents. Par ailleurs, les spores les plus grosses ont un meilleur taux de germination plus élevé, compensant ainsi leur production en plus faible quantité

- les interactions spécifiques entre le virus et champignons suggèrent une adaptation du virus à son hôte: les virus de type F sont moins virulents lorsque leur souche hôte est issue d'un isolat de *C. parasitica* infecté par un sous-type F, que lorsqu'elle est issue d'un isolat de type I (Fig. 18).

- une corrélation est observée entre virulence et transmission horizontale pour les virus du sous-type F (Fig.19). Ceci confirmerait l'existence d'un trade-off qui pourrait réguler l'évolution de la virulence du CHV1 chez ces virus et maintenir un certain niveau de virulence. A l'inverse pour les virus de type I, aucune corrélation n'est observée, la virulence chez ces virus semble uniquement contrainte, et pourrait donc évoluer vers l'avirulence.

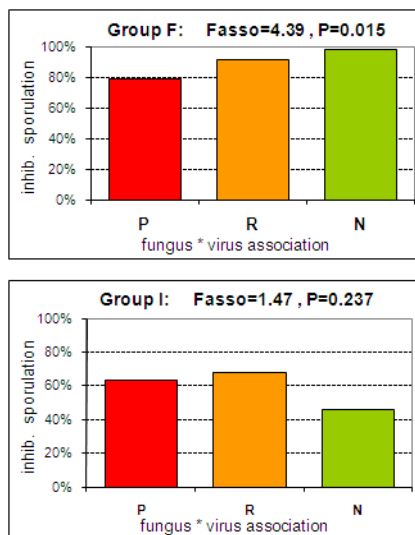


Figure 18. effets de l'origine de la souche fongique hôte sur la virulence du virus, pour els deux types de CHV1 étudiés

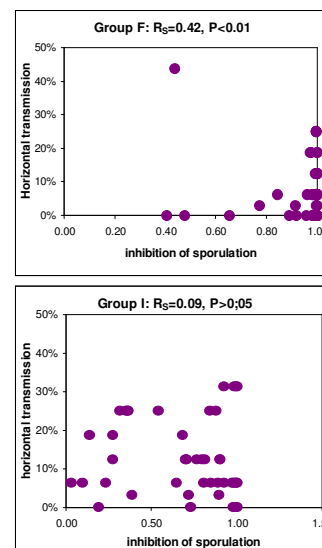


Fig. 19. Corrélation entre virulence, estimée par la diminution de la sporulation et transmission horizontale pour les deux types de CHV1 étudiés.

Conclusion

Les travaux réalisés autour du système hyperparasité châtaignier-*C. parasitica*-CHV1 nous ont permis d'aborder plusieurs questions relatives à la biologie des populations, l'évolution de leur diversité génétique et phénotypique et l'évolution de la transmission et virulence d'un parasite.

Un effort important a porté sur la diversité et structure des populations du champignon. Ces travaux ont permis de déduire les principaux processus qui façonnent ces populations. Les populations françaises, et pour partie européennes, de *C. parasitica* seraient issues d'introductions multiples, venant de l'aire d'origine (Chine et Japon) et d'une « tête de pont » (Etats-Unis). Seuls les génotypes les plus aptes à la dispersion se seraient établis, ceux arrivant en Europe étant déjà adaptés soit suite à leur première invasion aux Etats-Unis soit à une invasion encore plus ancienne en Chine. Aucune preuve d'un effet de sélection portant sur le pouvoir pathogène sur *C. sativa* (ou tout au moins sur la composante que nous pouvons aisément mesurer) n'a pu être apportée.

La différence fondamentale entre les situations américaine et européenne est l'introduction du CHV1, qui n'a réussi à s'établir qu'en Europe.

Si une introduction simultanée de certains sous-types avec le champignon est certainement très probable, vu la correspondance des populations du parasite et de l'hyperparasite, celle du sous-type I, associé aux populations d'origine américaine, reste plus difficile à expliquer. Pour élucider la question de l'origine du CHV1 en Europe, il faudrait étudier la variabilité des populations de CHV1 asiatiques, très élevée d'après des premiers résultats (Milgroom, Cortesi, 2004).

Les deux modèles mathématiques permettent de faire l'hypothèse que la conjonction d'une forte sensibilité du châtaignier américain (donc la forte virulence du champignon), d'une forte virulence du CHV1 et de la diversité en GCV, n'a pas permis de réunir les conditions nécessaires à l'établissement de cet hyperparasite aux Etats-Unis et a conduit à son extinction. A l'inverse des virus moins virulents (CHV4 par exemple) ont réussi cet établissement. Le maintien de *C. parasitica* sur ce continent pourrait s'expliquer par la présence d'autres arbres hôtes (les chênes) et la présence de ces autres CHV.

Concernant l'étude de l'interaction hôte*parasite, j'ai donné la priorité à l'interaction parasite*hyperparasite car sa manipulation est compatible avec des expérimentations au laboratoire, alors que l'étude de la virulence de *C. parasitica* est plus difficile et ne peut se faire qu'en conditions de confinement (un niveau de confinement NS2 est requis pour les expérimentations sur ce parasite de quarantaine). Les différents résultats acquis mettent en évidence de fortes différences entre les sous-types viraux, qui se traduisent pas des caractéristiques épidémiologiques, des interactions hôte* parasite, des corrélations entre traits différents. Cependant la compréhension du système dans sa globalité nécessite une étude des liens entre transmission et virulence du champignon, car pour un tel modèle biologique les prédictions théoriques (évolution dans le cadre d'infections multiples, trade-off) semblent difficiles à appliquer telles quelles.

Les différents résultats obtenus ont permis de raisonner les stratégies de lutte biologique mises en place en France et proposer des mélanges de souches hypovirulentes adaptés pour chaque région de production. La mise en évidence de la non dispersion et de l'échec d'installation des sous-types viraux de type F m'a conduit à proposer de nouvelles souches hypovirulentes infectées par le sous-type viral de type I. Depuis Grente en effet, les souches hypovirulentes utilisées étaient toutes infectées par des sous-types viraux de type F.

Perspectives

Mon projet est d'essayer de mieux comprendre les processus qui régissent les interactions hôte-parasite étudiées. Concernant *C. parasitica*, je compte prolonger le travail sur les traits d'histoire de vie,

reliés à sa virulence vis à vis du châtaignier et à sa sensibilité vis à vis du CHV1, et initier une étude sur la diversité et l'évolution des gènes d'incompatibilité végétative. Concernant le châtaignier, mon objectif est d'approfondir l'étude de la variabilité génétique de la résistance du au chancre et à l'encre. Ces études, réalisées au niveau de l'individu ou du gène, sont complétées par l'étude de communautés fongiques.

Stratégie adaptative et stratégie de reproduction de C. parasitica

Peu d'études existent concernant la variation phénotypique et son déterminisme génétique chez les champignons. Pourtant la variation des traits d'histoire de vie détermine, en interaction avec l'environnement, les augmentations de fitness des individus nécessaires pour une adaptation à un nouvel environnement. Des augmentations de virulence sont parfois décrites (Goodwin *et al.*, 1995) mais les traits liés à la dispersion et à la reproduction, souvent associés à des changements évolutifs durant les invasions de plantes (Whitney, Gabler, 2008) sont beaucoup moins étudiés.

Les résultats obtenus concernant les changements adaptatifs de *C. parasitica* au cours des invasions montrent que cette question est difficile du fait des origines multiples de *C. parasitica* en Europe et de notre difficulté à assigner les isolats introduits à des populations d'origine (et donc à faire les bonnes comparaisons). L'étude de ces changements le long d'un gradient de colonisation devrait lever cette difficulté. Mon projet est donc d'étudier des individus prélevés sur un gradient Sud-Nord (correspondant au sens de progression de l'épidémie de chancre en France et de mesurer leurs traits d'histoire de vie (dispersion, virulence du champignon sur *C. sativa* et autres hôtes, sensibilité aux différents sous-types de virus, pouvoir de compétition, fécondité femelle).

L'enjeu est :

- d'estimer l'héritabilité et la variance génétique des traits d'histoire de vie chez *C. parasitica*, et en particulier pour ceux impliqués dans la dispersion, la virulence et la sensibilité au virus, et d'estimer parallèlement la variation et différenciation génétique de ces populations et ainsi caractériser le potentiel adaptatif de cette espèce

- d'étudier les corrélations entre dispersion et virulence chez *C. parasitica*, et autres traits d'histoire de vie pour mettre en évidence des stratégies adaptatives. Il est nécessaire de vérifier l'hypothèse, suggérée par les résultats obtenus, de l'existence de stratégies différentes en fonction de l'environnement : stratégies de type r dans les nouvelles aires de colonisation (se traduisant par une forte sporulation) et stratégie de type K dans les aires anciennement colonisées (sporulation moins forte mais spores plus grosses germant mieux). Le même style de compromis a été observé pour un autre type de stress rencontré par *C. parasitica* (infection par le CHV1).

Ce projet devrait permettre l'acquisition de nouvelles connaissances sur l'écologie évolutive de *C. parasitica*, qui auront une portée générale, dans le cadre des invasions biologiques réalisées par un parasite forestier, mais aussi des applications directes en termes de gestion de ce parasite de quarantaine. Les collaborations établies au niveau européen nous permettent d'envisager cette étude à l'échelle européenne, ce qui permettrait d'améliorer la législation européenne visant *C. parasitica*.

Diversité génétique et évolution des gènes d'incompatibilité végétative

Les différentes études réalisées à l'aide des GCV ou sur la transmission horizontale du virus m'ont amené à m'intéresser aux systèmes de reconnaissance du non-soi. Ces systèmes sont décrits chez les organismes sessiles regroupés en colonies comme les cnidaires, les myxomycètes et les champignons (P27). L'incompatibilité végétative limitant les hétérocaryons et favorisant l'évolution de groupes isolés à l'intérieur de la même espèce constitue une composante importante de la dynamique des populations et

de l'évolution des champignons. La question du maintien de la diversité allélique des systèmes de reconnaissance a depuis longtemps intéressé et motivé les biologistes. Le développement de la génomique et des outils de bioinformatique permet désormais le clonage et l'étude de nouveaux gènes et la détection de signatures de sélection. Une famille de gènes, responsables de l'incompatibilité végétative chez les Ascomycètes, appelés HNWD, a été particulièrement étudiée chez *P. anserina* (Paoletti *et al.*, 2007). Leur organisation moléculaire rappelle fortement l'organisation de protéines impliquées dans les processus de reconnaissance de pathogènes chez les plantes et les animaux (STAND protéines, (Paoletti, Saupe, 2009).

En collaboration avec M. Paoletti (CNRS), nous avons développé un projet dont l'objectif est d'identifier chez *C. parasitica* des gènes *vic* candidats et d'étudier la diversité génétique de ces gènes afin de rechercher des signatures de sélection. Ceci est possible grâce au séquençage du génome de *C. parasitica* et à la constitution dans notre équipe d'une importante base de données sur de multiples populations naturelles de *C. parasitica*, caractérisées à l'aide de marqueurs neutres (microsatellites) et phénotypiques (GCV). Par ailleurs, l'instabilité des GCV sera étudiée au laboratoire en isolant et caractérisant des variants phénotypiques qui semblent incompatibles avec leurs isolats « mères ». Cette variabilité observée couramment chez les ascomycètes pourrait être la conséquence d'un taux très élevé de mutations spontanées, comme il a été observé chez *P. anserina*.

Pour préciser le rôle des gènes *vic* dans les transferts horizontaux entre GCV, j'ai par ailleurs initié une étude afin de mettre en évidence les phénomènes d'hétérocaryose et de parasexualité chez *C. parasitica*. L'hypothèse testée est que l'incompatibilité végétative n'interdit pas plus les échanges nucléaires entre GCV que les échanges de CHV1. En utilisant la même méthode, celle des inoculations multiples sur tiges excisées, nous espérons pouvoir mettre en évidence l'existence de ces phénomènes de parasexualité entre isolats de GCV différents.

Architecture génétique de la résistance du châtaignier

Les études de cartographie comparée ont montré la syntenie existant entre chêne (*Quercus robur*) et châtaignier et la colinéarité de la distribution de certains QTL (Casasoli *et al.*, 2006; Casasoli *et al.*, 2004). Par ailleurs nous avons mis en évidence chez *Q. robur* des QTL de résistance à l'encre (P62) et des projets européens et américains ont pour objectif le séquençage de ces deux espèces de Fagacées. Ces résultats m'ont motivé pour poursuivre mon étude de la sensibilité à l'encre chez le chêne et chez le châtaignier en collaboration avec T. Barreneche (UREF, INRA Bordeaux), et pour y ajouter celle de la résistance au chancre.

Notre objectif est d'élucider les mécanismes et le déterminisme génétique de la résistance à ces pathogènes, par une approche classique de génétique quantitative (étude d'un diallele) couplée à une approche QTL mettant en jeu des croisements complexes (approche de type « pedigree-based mapping »). La résistance à *P. cinnamomi* et *P. cambivora* est étudiée dans le cadre d'un projet ANR Génoplante (Projet Realtime), et sera comparée à la résistance au chancre. Notre projet s'intéresse à ces maladies dans un contexte très large puisque trois espèces de châtaignier (1200 génotypes) contrastées pour leur résistance aux deux pathogènes seront étudiées, de même plusieurs isolats des deux pathogènes seront testés. Enfin, la faisabilité d'une sélection phénotypique dans le cadre d'une gestion intégrée de ces deux maladies sera étudiée, en relation avec les partenaires de la filière fruitière.

Communautés fongiques

Un fait marquant, dont l'étude d'un système hyperparasité m'a fait prendre conscience, est l'importance dans un écosystème des relations trophiques entre les espèces parasites et les espèces libres (Holt, Hochberg, 1998; Poulin, 1999; Price *et al.*, 1986). Un autre résultat marquant résultant des nombreuses études réalisées ces dernières années sur la diversité et distribution des *Phytophthora* spp. est la description de nouvelles espèces de *Phytophthora* certainement indigènes, peu ou pas pathogènes (Brasier *et al.*, 2003; Hansen, Delatour, 1999; Jung *et al.*, 2002; Reeser *et al.*, 2007). Ces communautés, leur fonctionnement et écologie sont très mal connus, ainsi que la plupart des assemblages de champignons.

Dans le cadre de la thèse de T. Cordier, les communautés d'Oomycètes du sol et les communautés fongiques foliaires associées au hêtre seront caractérisées en utilisant la technique des SSCP (Single Strand conformation Polymorphisms) déjà testée dans un projet (P42) et le pyroséquençage (Buée *et al.*, 2009; Kong *et al.*, 2005; Opik *et al.*, 2009; Zinger *et al.*, 2007). Cette caractérisation permettra non seulement de combler un manque de connaissances en écologie pour un groupe important mais négligé d'eucaryotes (Hawksworth, 2001) mais aussi des avancées importantes dans le domaine de la santé des plantes. En effet, l'expression du pouvoir pathogène d'une espèce fongique donnée, et donc son impact sur le fonctionnement de l'écosystème forestier, semblent fortement dépendants des autres espèces fongiques présentes dans son environnement (Arnold *et al.*, 2003). En utilisant un gradient altitudinal et un dispositif expérimental, nous analyserons comment le climat et la diversité en hôtes influent sur ces communautés, et donc comment ces communautés seront affectées par les changements globaux futurs.

Références bibliographiques

- Alizon S, Hurford A, Mideo N, Van Baalen M (2009) Virulence evolution and the trade-off hypothesis: history, current state of affairs and the future. *Journal of Evolutionary Biology* **22**, 245-259.
- Allemann C, Hoegger P, Heiniger U, Rigling D (1999) Genetic variation of *Cryphonectria* hypoviruses (CHV1) in Europe, assessed using restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Molecular Ecology* **8**, 843-854.
- Anagnostakis SL (1987) Chestnut blight: the classical problem of an introduced pathogen. *Mycologia* **79**, 23-37.
- Archie EA, Luikart G, Ezenwa VO (2009) Infecting epidemiology with genetics: a new frontier in disease ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **24**, 21-30.
- Arnold AE, Mejia LC, Kyllo D, et al. (2003) Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **100**, 15649-15654.
- Biella S, Smith ML, Aist JR, Cortesi P, Milgroom MG (2002) Programmed cell death correlates with virus transmission in a filamentous fungus. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **269**, 2269-2276.
- Bradley DJ, Gilbert GS, Martiny JBH (2008) Pathogens promote plant diversity through a compensatory response. *Ecology Letters* **11**, 461-469.
- Braganca H, Simoes S, Onofre N, Tenreiro R, Rigling D (2007) *Cryphonectria parasitica* in Portugal: diversity of vegetative compatibility types, mating types, and occurrence of hypovirulence. *Forest Pathology* **37**, 391-402.
- Brasier CM, Cooke DEL, Duncan JM, Hansen EM (2003) Multiple new phenotypic taxa from trees and riparian ecosystems in *Phytophthora gonapodyides*-*P. megasperma* ITS Clade 6, which tend to be high-temperature tolerant and either inbreeding or sterile. *Mycological Research* **107**, 277-290.
- Buck KW (1986) Fungal virology- an overview. In: *Fungal virology* (ed. KW B), pp. 1-84. CRC Press, Boca Raton.
- Buckley YM (2008) The role of research for integrated management of invasive species, invaded landscapes and communities. *Journal of Applied Ecology* **45**, 397-402.
- Buée M, Reich M, Murat C, et al. (2009) 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytologist* **184**, 449-456.
- Carbone I, Liu YC, Hillman BI, Milgroom MG (2004) Recombination and migration of *Cryphonectria hypovirus 1* as inferred from gene genealogies and the coalescent. *Genetics* **166**, 1611-1629.
- Casasoli M, Derory J, Morera-Dutrey C, et al. (2006) Comparison of quantitative trait loci for adaptive traits between oak and chestnut based on an expressed sequence tag consensus map. *Genetics* **172**, 533-546.
- Casasoli M, Pot D, Plomion C, et al. (2004) Identification of QTLs affecting adaptive traits in *Castanea sativa* Mill. *Plant Cell and Environment* **27**, 1088-1101.
- Chen B, Nuss DL (1999) Infectious cDNA clone of hypovirus CHV1-Euro7: a comparative virology approach to investigate virus-mediated hypovirulence of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*. *Journal of Virology* **73**, 985-992.
- Chen BS, Geletka LM, Nuss DL (2000) Using chimeric hypoviruses to fine-tune the interaction between a pathogenic fungus and its plant host. *Journal of Virology* **74**, 7562-7567.
- Choi GH, Nuss DL (1992) A viral gene confers hypovirulence-associated traits to the chestnut blight fungus. *EMBO Journal* **11**, 473-477.
- Collado-Romero M, Mercado-Blanco J, Olivares-Garcia C, Jimenez-Diaz RM (2008) Phylogenetic analysis of *Verticillium dahliae* vegetative compatibility groups. *Phytopathology* **98**, 1019-1028.
- Cortesi P, McCulloch CE, Song H, Lin H, Milgroom MG (2001) Genetic control of horizontal virus transmission in the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Genetics* **159**, 107-118.
- Dawe AL, Nuss DL (2001) Hypoviruses and chestnut blight: Exploiting viruses to understand and modulate fungal pathogenesis. *Annual Review of Genetics* **35**, 1-29.
- de Meeus T, Renaud F (2002) Parasites within the new phylogeny of eukaryotes. *Trends in Parasitology* **18**, 247-251.
- Debets F, Yang X, Griffiths AJF (1994) Vegetative Incompatibility in *Neurospora* - Its Effect on Horizontal Transfer of Mitochondrial Plasmids and Senescence in Natural-Populations. *Current Genetics* **26**, 113-119.
- Diugosch KM, Parker IM (2008) Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular Ecology* **17**, 431-449.
- Ehrlich KC, Montalbano BG, Cotty PJ (2007) Analysis of single nucleotide polymorphisms in three genes shows evidence for genetic isolation of certain *Aspergillus flavus* vegetative compatibility groups. *Fems Microbiology Letters* **268**, 231-236.
- Facon B, Genton BJ, Shykoff J, et al. (2006) A general evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology & Evolution* **21**, 130-135.
- Gilbert GS (2002) Evolutionary ecology of plant diseases in natural ecosystems. *Annual Review of Phytopathology* **40**, 13-43.
- Glass NL, Kaneko I (2003) Fatal attraction: Nonself recognition and heterokaryon incompatibility in filamentous fungi. *Eukaryotic Cell* **2**, 1-8.
- Gobbin D, Hoegger PJ, Heiniger U, Rigling D (2003) Sequence variation and evolution of *Cryphonectria hypovirus 1* (CHV-1) in Europe. *Virus Research* **97**, 39-46.
- Goodwin SB, Sujkowski LS, Fry WE (1995) Rapid evolution of pathogenicity within clonal lineages of the potato late blight disease fungus *Phytopathology* **85**, 669-676.
- Goss EM, Carbone I, Grunwald NJ (2009) Ancient isolation and independent trait evolution of the three clonal lineages of the exotic sudden oak death pathogen *Phytophthora ramorum*. *Molecular Ecology* **18**, 1161-1174.
- Grente J (1981) Les variants hypovirulents de l' *Endothia parasitica* et la lutte biologique contre le châtaignier. Dissertation, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France.
- Grubisha LC, Cotty PJ (2010) Genetic isolation among sympatric vegetative compatibility groups of the

- aflatoxin-producing fungus *Aspergillus flavus*. *Molecular Ecology* **19**, 269-280.
- Guerin L, Froidefond G, Xu XM (2001) Seasonal patterns of dispersal of ascospores of *Cryphonectria parasitica* (chestnut blight). *Plant Pathology* **50**, 717-724.
- Hansen E, Delatour C (1999) *Phytophthora* species in oak forests of north-east France. *Annals of Forest Science* **56**, 539-547.
- Hawksworth DL (2001) The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research* **105**, 1422-1432.
- Heilmann LJ, Nitzan N, Johnson DA, et al. (2006) Genetic variability in the potato pathogen *Colletotrichum coccodes* as determined by amplified fragment length polymorphism and vegetative compatibility group analyses. *Phytopathology* **96**, 1097-1107.
- Heiniger U, Rigling D (1994) Biological control of chestnut blight in Europe. *Ann. Rev. Phytopathol.* **32**, 581-599.
- Hillman BI, Fulbright DW, Nuss DL, Van Alfen NK (2000) Hypoviridae. In: *Virus Taxonomy: Seventh Report of the International Committee for the Taxonomy of Viruses* (eds. Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, et al.), pp. 515-520. Academic Press, San Diego.
- Hoegger PJ, Heiniger U, Holdenrieder O, Rigling D (2003) Differential transfer and dissemination of hypovirus and nuclear and mitochondrial genomes of a hypovirus-infected *Cryphonectria parasitica* strain after introduction into a natural population. *Applied and Environmental Microbiology* **69**, 3767-3771.
- Hoegger PJ, Rigling D, Holdenrieder O, Heiniger U (2000) Genetic structure of newly established populations of *Cryphonectria parasitica*. *Mycological Research* **104**, 1108-1116.
- Holt RD, Hochberg ME (1997) When is Biological Control Evolutionarily Stable (or is it)? *Ecology* **78**, 1673-1683.
- Holt RD, Hochberg ME (1998) The Coexistence of Competing Parasites. Part II--Hyperparasitism and Food Chain Dynamics. *Journal of Theoretical Biology* **193**, 485-495.
- Holt RD, Pickering J (1985) Infectious disease and species coexistence- A model of Lotka-Volterra form. *American Naturalist* **126**, 196-211.
- Hufbauer RA, Roderick GK (2005) Microevolution in biological control: Mechanisms, patterns, and processes. *Biological Control* **35**, 227-239.
- Jung T, Hansen EM, Winton L, Osswald W, Delatour C (2002) Three new species of *Phytophthora* from European oak forests. *Mycological Research* **106**, 397-411.
- Keller SR, Taylor DR (2008) History, chance and adaptation during biological invasion: separating stochastic phenotypic evolution from response to selection. *Ecology Letters* **11**, 852-866.
- Kong P, Richardson PA, Hong CX (2005) Direct colony PCR-SSCP for detection of multiple pythiaceae oomycetes in environmental samples. *Journal of Microbiological Methods* **61**, 25-32.
- Krstin L, Novak-Agbaba S, Rigling D, Krajacic M, Curkovic Perica M (2008) Chestnut blight fungus in Croatia: diversity of vegetative compatibility types, mating types and genetic variability of associated *Cryphonectria hypovirus 1*. *Plant Pathology* **57**, 1086-1096.
- Lambrechts L, Fellous S, Koella JC (2006) Coevolutionary interactions between host and parasite genotypes. *Trends in Parasitology* **22**, 12-16.
- Liu YC, Durrett R, Milgroom MG (2000) A spatially-structured stochastic model to simulate heterogenous transmission of viruses in fungal populations. *Ecological Modelling* **127**, 291-308.
- Liu YC, Milgroom MG (2007) High diversity of vegetative compatibility types in *Cryphonectria parasitica* in Japan and China. *Mycologia* **99**, 279-284.
- Lockwood JL, Cassey P, Blackburn T (2005) The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends in Ecology & Evolution* **20**, 223-228.
- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, et al. (2000) Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* **10**, 689-710.
- Marra RE, Cortesi P, Bissegger M, Milgroom MG (2004) Mixed mating in natural populations of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Heredity* **93**, 189-195.
- McCallum H, Barlow N, Hone J (2001) How should pathogen transmission be modelled? *Trends in Ecology & Evolution* **16**, 295-300.
- McGuire IC, Davis JE, Double ML, et al. (2005) Heterokaryon formation and parasexual recombination between vegetatively incompatible lineages in a population of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Mol Ecol* **14**, 3657-3669.
- McGuire IC, Marra RE, Milgroom MG (2004) Mating-type heterokaryosis and selfing in *Cryphonectria parasitica*. *Fungal Genetics and Biology* **41**, 521-533.
- Michalakis Y, Olivieri I, Renaud F, Raymond M (1992) Pleiotropic action of parasites- How to be good for the host. *Trends in Ecology & Evolution* **7**, 59-62.
- Milgroom MG, Cortesi P (1999) Analysis of population structure of the chestnut blight fungus based on vegetative incompatibility genotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**, 10518-10523.
- Milgroom MG, Cortesi P (2004) Biological control of chestnut blight with hypovirulence: a critical analysis. *Annu Rev Phytopathol* **42**, 311-338.
- Milgroom MG, Sotirovski K, Risteski M, Brewer MT (2009) Heterokaryons and parasexual recombinants of *Cryphonectria parasitica* in two clonal populations in southeastern Europe. *Fungal Genetics and Biology* **46**, 849-854.
- Milgroom MG, Sotirovski K, Spica D, et al. (2008) Clonal population structure of the chestnut blight fungus in expanding ranges in southeastern Europe. *Molecular Ecology* **17**, 4446-4458.
- Milgroom MG, Wang K, Zhou Y, Lipari SE, Kaneko S (1996) Intercontinental population structure of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Mycologia* **88**, 179-190.
- Nauta MJ, Hoekstra RF (1994) Evolution of Vegetative Incompatibility in Filamentous Ascomycetes.1. Deterministic Models. *Evolution* **48**, 979-995.
- Nauta MJ, Hoekstra RF (1996) Vegetative incompatibility in Ascomycetes: Highly polymorphic but selectively neutral? *Journal of Theoretical Biology* **183**, 67-76.
- Opik M, Metsis M, Daniell TJ, Zobel M, Moora M (2009) Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest. *New Phytologist* **184**, 424-437.
- Paillet FL, Rutter PA (1989) Replacement of native oak and hickory tree species by the introduced American chestnut (*Castanea dentata*) in southwestern Wisconsin. *Can. J. Bot.* **67**, 3457-3469.

- Paoletti M, Saupe SJ (2009) Fungal incompatibility: Evolutionary origin in pathogen defense? *Bioessays* **31**, 1201-1210.
- Paoletti M, Saupe SJ, Clave C (2007) Genesis of a Fungal Non-Self Recognition Repertoire. *Plos One* **2**.
- Papazova-Anakieva I, Sotirovski K, Cortesi P, Milgroom MG (2008) Horizontal transmission of hypoviruses between vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica* in Macedonia. *European Journal of Plant Pathology* **120**, 35-42.
- Parker IM, Gilbert GS (2004) The evolutionary ecology of novel plant-pathogen interactions. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* **35**, 675-700.
- Parsley TB, Chen BS, Geletka LN, Nuss DL (2002) Differential modulation of cellular signaling pathways by mild and severe hypovirus strains. *Eukaryotic Cell* **1**, 401-413.
- Peever TL, Liu Y-C, Cortesi P, Milgroom MG (2000) Variation in tolerance and virulence in the chestnut blight fungus-hypovirus interaction. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 4863-4869.
- Pimentel D, Lach L, Zuniga R, Morrison D (2000) Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. *BioScience* **50**, 53-65.
- Pipe ND, Buck KW, Brasier CM (1995) Molecular relationships between *Ophiostoma ulmi* and the NAN and EAN races of *O. novo-ulmi* determined by RADP markers. *Mycological Research* **99**, 653-658.
- Poulin R (1999) The functional importance of parasites in animal communities: many roles at many levels? *International Journal for Parasitology* **29**, 903-914.
- Price PW, Westoby M, Rice B, et al. (1986) Parasite mediation in ecological interactions *Annual Review of Ecology and Systematics* **17**, 487-505.
- Prospero S, Conedera M, Heiniger U, Rigling D (2006) Saprophytic activity and sporulation of *Cryphonectria parasitica* on dead chestnut wood in forests with naturally established hypovirulence. *Phytopathology* **96**, 1337-1344.
- Reeser PW, Hansen EM, Sutton W (2007) *Phytophthora siskiyouensis*, a new species from soil, water, myrtlewood (*Umbellularia californica*) and tanoak (*Lithocarpus densiflorus*) in southwestern Oregon. *Mycologia* **99**, 639-643.
- Richman A (2000) Evolution of balanced genetic polymorphism. *Molecular Ecology* **9**, 1953-1963.
- Roderick GK, Navajas M (2003) Genes in new environments: Genetics and evolution in biological control. *Nature Reviews Genetics* **4**, 889-899.
- Root C, Balbalian C, Bierman R, et al. (2005) Multi-seasonal field release and spermatization trials of transgenic hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica* containing cDNA copies of hypovirus CHV1-EP713. *Forest Pathology* **35**, 277-297.
- Saupe SJ (2000) Molecular genetics of heterokaryon incompatibility in filamentous ascomycetes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **64**, 489-502.
- Shapira R, Choi GH, Nuss DL (1991) Virus-like genetic organization and expression strategy for a double-stranded RNA genetic element associated with biological control of chestnut blight. *EMBO Journal* **10**, 731-739.
- Sotirovski K, Milgroom MG, Rigling D, Heiniger U (2006) Occurrence of *Cryphonectria hypovirus 1* in the chestnut blight fungus in Macedonia. *Forest Pathology* **36**, 136-143.
- Sotirovski K, Papazova-Anakieva I, Grunwald NJ, Milgroom MG (2004) Low diversity of vegetative compatibility types and mating type of *Cryphonectria parasitica* in the southern Balkans. *Plant Pathology* **53**, 325-333.
- Taylor DR, Jarosz AM, Lenski RE, Fulbright DW (1998) The acquisition of hypovirulence in host-pathogen systems with three trophic levels. *American Naturalist* **151**, 343-355.
- Weste G, Marks GC (1987) The biology of *Phytophthora cinnamomi* in Australasian forests. *Annual Review of Phytopathology* **25**, 207-229.
- Whitney KD, Gabler CA (2008) Rapid evolution in introduced species, 'invasive traits' and recipient communities: challenges for predicting invasive potential. *Diversity and Distributions* **14**, 569-580.
- Williamson MH, Fitter A (1996) The characters of successful invaders. *Biological Conservation* **78**, 163-170.
- Windsor DA (1998) Most of the species on Earth are parasites. *International Journal for Parasitology* **28**, 1939-1941.
- Zinger L, Gury J, Giraud F, et al. (2007) Improvements of polymerase chain reaction and capillary electrophoresis single-strand conformation polymorphism methods in microbial ecology: Toward a high-throughput method for microbial diversity studies in soil. *Microbial Ecology* **54**, 203-216.