



Relevé de conclusions Rencontre LabEx TULIP & SEMENCIERS DU SUD-OUEST

20 Novembre 2013, Auzeville

Cette rencontre constitue la deuxième étape (rencontre avec les acteurs sociétaux des sciences de l'environnement en juin dernier) d'une réflexion menée sur les actions à envisager sur le volet « Valorisation » du projet TULIP, et plus particulièrement dans ce cas, vers la mise en place d'une possible structure de transfert associée à la communauté TULIP. Il s'agit de discuter autour de projets d'actions et outils potentiels pour des actions de valorisation TULIP. Le but sera de faciliter la valorisation des résultats de recherche des membres du Labex, un des objectifs du projet TULIP étant d'assurer de tels transferts depuis nos recherches vers les acteurs sociétaux des domaines de l'environnement et de l'agronomie. Ceci implique souvent un passage depuis des espèces modèles vers des espèces à intérêt agronomique ou écologique.

I – Introduction - *Dominique Roby, Labex TULIP*

Une présentation de la philosophie de TULIP est présentée, ainsi que le projet scientifique de TULIP, avec un rappel de ses cinq thèmes majeurs :

- Interactions organisme-environnement
- Interactions organisme-organisme
- Effet de l'environnement sur les interactions organisme-organisme
- Interactions entre populations et communautés/écosystèmes
- Vers une théorie unifiée des interactions

et de ses grands objectifs scientifiques, pédagogiques, technologiques et de transfert.

II – Conférences - Travaux en cours

Une copie des diaporamas présentés par les conférenciers est jointe à ce document. Ci-après un bref résumé des présentations.

Julie Cullimore , Labex TULIP « Fixation de l'azote par les plantes »

L'idée est de bien comprendre les interactions entre plante et microorganismes fixateurs d'azote pour développer des méthodes d'enrichissement des sols en azote et améliorer le rendement de plantes de grandes cultures comme le blé, le maïs ou le riz en réduisant /voire supprimant tout apport d'intrants.

Nicolas Langlade , Labex TULIP « Tolérance au stress hydrique chez les plantes : cas du tournesol »

Une approche est présentée de biologie des systèmes des voies de régulation transcriptomique des signaux hormonaux et des stress abiotiques, notamment le stress hydrique.

Dominique Roby/Sylvain Raffael , Labex TULIP « Résistance quantitative des plantes aux bioagresseurs et protection des cultures »

Les relations hôtes pathogènes s'inscrivent dans une course aux armements, chaque nouvelle défense de l'hôte étant très souvent rapidement contournée par les pathogènes. Un objectif de nos recherches vise à trouver des gènes ou plus généralement des voies de résistance durable afin de lutter le plus efficacement possible contre les bioagresseurs, et notamment les bases moléculaires de la résistance quantitative.

Claire de Mazancourt/Guillaume Besnard, Labex TULIP « Apports potentiels d'une perspective écologique »



Cet exposé aborde une perspective à l'échelle des communautés d'organismes. Dans ce contexte, la biodiversité a été montrée comme augmentant sensiblement la production globale d'une communauté de plantes et comme apportant une réelle stabilisation de cette productivité au cours des années. Globalement la prise en compte de la biodiversité devrait permettre de maintenir une production de biomasse et une qualité élevée malgré les aléas climatiques.

L'origine et le cas de l'olivier a ensuite été abordé, cette espèce présentant une grande diversité génétique. En apportant l'éclairage de l'histoire des populations des plantes cultivées de telles recherches devaient nous aider à concevoir des pratiques agronomiques durables sur le long terme.

Olivier Lucas, AGRIMIP « Aperçu général du métier de semencier et des objectifs et critères de sélection en matière de création variétale pour les espèces de grande culture »

Il y a beaucoup d'attente en matière variétales et en particulier produire plus avec moins d'intrants (phyto, engrais, eau)... Notre sélection a besoin de combiner savoir multidisciplinaire, disposer d'un éventail de technologies le plus large possible, d'une visibilité réglementaire qui permet d'investir le processus de sélection le plus long...

III – TABLE RONDE

Bruno Grezes-Besset (BIOGEMMA) : Comment valoriser les résultats de recherche du LabEx?
Des pistes pour entamer, assurer et valider un transfert vers les espèces de grande culture

Il existe près de 200 structures de transfert en région, avec des labels spécifiques répertoriés selon trois catégories :

- CDT (cellule de diffusion technologique)
- CRT (centre de ressources technologiques)
- PRT (plateformes technologiques : liées à l'enseignement et la recherche)

D'un point de vue de l'entreprise privée, les moyens de valorisation de la recherche dépendent de:

1. l'existence d'un partenariat public/privé,
2. type de recherche : espèce grande culture ou espèce modèle.

Actuellement, la difficulté est de transférer les découvertes des espèces modèles vers des espèces à intérêt agronomique, car il est nécessaire de mettre en place une phase de validation pour le passage de l'espèce modèle à l'espèce de grande culture et de regrouper les moyens pour la phase de validation (gènes candidats, validation fonctionnelle).

La proposition est faite d'une structure 'hors mur' disposant des outils de validation (génotypage, phénotypage, pop. ad hoc...) assurant cette analyse de portabilité, de type public-privé, et dont un comité de direction pourrait procéder à la sélection des projets d'intérêt pour une application. La question du support financier (Labex, privé) est posée.

Pauline Lacapelle Chaire industrielle ou chaire partenariale ?

Il est proposé la solution de la chaire industrielle ou chaire partenariale avec création ou non d'une fondation. Un descriptif précis du dispositif est présenté. Cette chaire correspond en général à des questions amont, mais cela demeure flexible. Une autre solution est également envisagée (labo commun) mais présente l'inconvénient d'être bilatéral. Il ressort des discussions que la chaire industrielle (ANR) paraît plus adaptée pour répondre aux besoins de valorisation et de gestion pour l'ensemble des communautés : semenciers, public, ANR.

3 – Discussion – Animation Dominique Roby

Plusieurs points ont été soulevés au cours d'une discussion très riche :

- la communauté est favorable aux propositions formulées, mais suggère de ne pas restreindre les contours d'une telle « structure », car la valorisation de nos résultats ne se limite pas aux seuls semenciers
- la question de la création d'une fondation est posée
- la possibilité Chaire partenariale semble difficile à mettre en place du point de vue des industriels
- La proposition d'une « structure » qui regroupe académiques et industriels semble plus favorable
- La SATT (TTT) propose d'accompagner également le projet, et insiste sur sa volonté d'alimenter le transfert et aider justement à participer à la « preuve du concept »
- Est évoqué le fonctionnement du club « Biotech vertes » (co-animateur de cette journée) Agri Sud-Ouest Innovation.
- Est également ré-évoquée la possibilité (initialement inscrite dans le projet TULIP) d'engager un IR Valorisation dédié au projet TULIP, potentiellement mieux adapté au contexte « écologie »

Point important : Dans toutes nos démarches et discussions dans le domaine de la valorisation, il nous faut garder à l'esprit que le principal objectif scientifique de TULIP est d'intégrer les approches mécanistiques avec les approches écologiques et évolutives. De ce fait, pour qu'une telle structure de transfert remplisse les objectifs de TULIP, celle-ci doit intégrer ces deux types d'approches de manière intrinsèque. Ce sera là un des défis intéressant pour notre communauté scientifique.

Conclusions :

Il est proposé :

- D'instruire plus avant ce projet de « structure » de transfert
- De définir les missions et fonctionnement de cette structure
- D'instruire plus avant la possibilité de « chaire industrielle ANR »

Enfin, en parallèle, un appel à projets innovants public-privé TULIP sera lancé comme test en début de 2014, si cette proposition est validée par le Conseil Exécutif de TULIP.



Towards a **U**nified theory of biotic **I**nteractions: ro**L**e of environmental **P**erturbations

Dominique ROBY / Etienne DANCHIN

TULIP in a few figures

- ◉ 5 institutions: CNRS, UPS, INRA, INP, ENFA
- ◉ Managed by the PRES Toulouse, INRA July 2012
- ◉ 5 Labs (LIPM, EDB, LRSV, SEEM, GBF)
- ◉ Staff:
 - 128 Researchers and Faculty members
 - 105 Engineers, Technicians and Administrative staff
 - ~ 100 PhD and Post-Doc students
 - Total staff 350-400 people
- ◉ in more than 20 Research Teams
- ◉ Budget: 9 M€



Based on the perimeter of the FR3450

Agrobiosciences, Interactions, Biodiversity



OBJECTIVES

- ① Merge local scientific communities in
 - environmental sciences (ecology, biodiversity and evolution)
 - and
 - agrobiosciences (plant sciences, plant-microbe interactions)
- ② Understand, and thus predict, the adaptation of organisms and ecosystems to changing environments

SCIENTIFIC PROJECT TULIP

© Five Major Themes of Research:

- 1- **Organism-Environment** Interactions
- 2- **Organism-Organism** Interactions
- 3- **Environnemental effects on Organism-Organism** Interactions
- 4- Interactions **within populations and communities**
- 5- Towards a unified **theory** of biological interactions

Tools, Structures, Methods: how to run TULIP

- ◎ **Increase our scientific production/attractivity**
 - Supporting the partners' key projects
 - Helping the emergence of innovative projects
 - TULIP recruitment: Attracting top scientists
- ◎ **Develop an ambitious pedagogical project**
- ◎ **Promote translational research / innovation**
- ◎ **Providing a technological context**

Valorisation / Technological innovation

- ◉ *Many collaborative contracts with industrial partners - Patents*
- ◉ *Some examples of commercial applications of scientific breakthroughs (Nod and Myc factors)*

◉ **Project philosophy:** promote translational research programmes

- Promotion of low chemical inputs for a sustainable agriculture
- Genetic improvement of crops



Valorisation / Technological innovation

Objectifs

- Continuer les programmes de recherche finalisée et en ouvrir de nouveaux*
- Evaluer l'impact à long terme des nouveaux produits (biofongicides, biofertilisants, ..)*
- Transfert de nos résultats pour la conservation de la biodiversité (Observatoires, Conservatoires...)*

Moyens

- Interaction avec les services Valorisation de nos Tutelles et la SATT Toulouse Tech Transfer**
- Création d'un poste en charge valorisation TULIP?**
- Autres outils ?**

TABLE RONDE

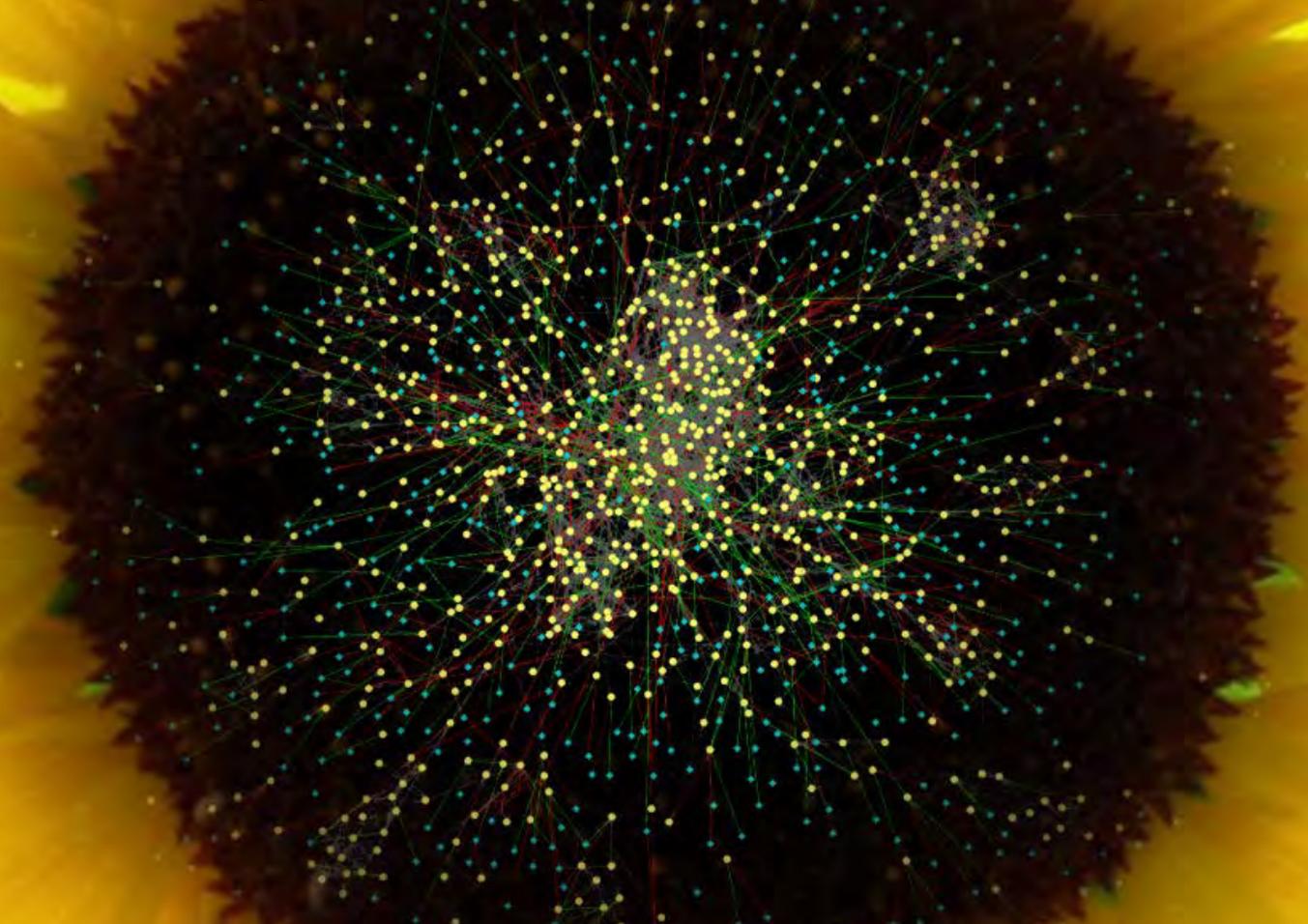
- ① Explorer/identifier des actions/outils possible pour la valorisation des travaux produits dans TULIP
- ① Deuxième action de ce type au sein de TULIP
20 Juin 2013: Première journée de valorisation conjointe entre les Labex TULIP et CEBA: Écologie et gestionnaires de l'environnement.
- ① Valorisation si possible sur les / à l'interface des deux volets Ecologie/Biologie de TULIP





MERCI DE VOTRE ATTENTION!

**Identification des réseaux génétiques
impliqués dans la réponse à la sécheresse dans
une espèce cultivée: exemple du tournesol**



Nicolas Langlade

LIPM
INRA - CNRS

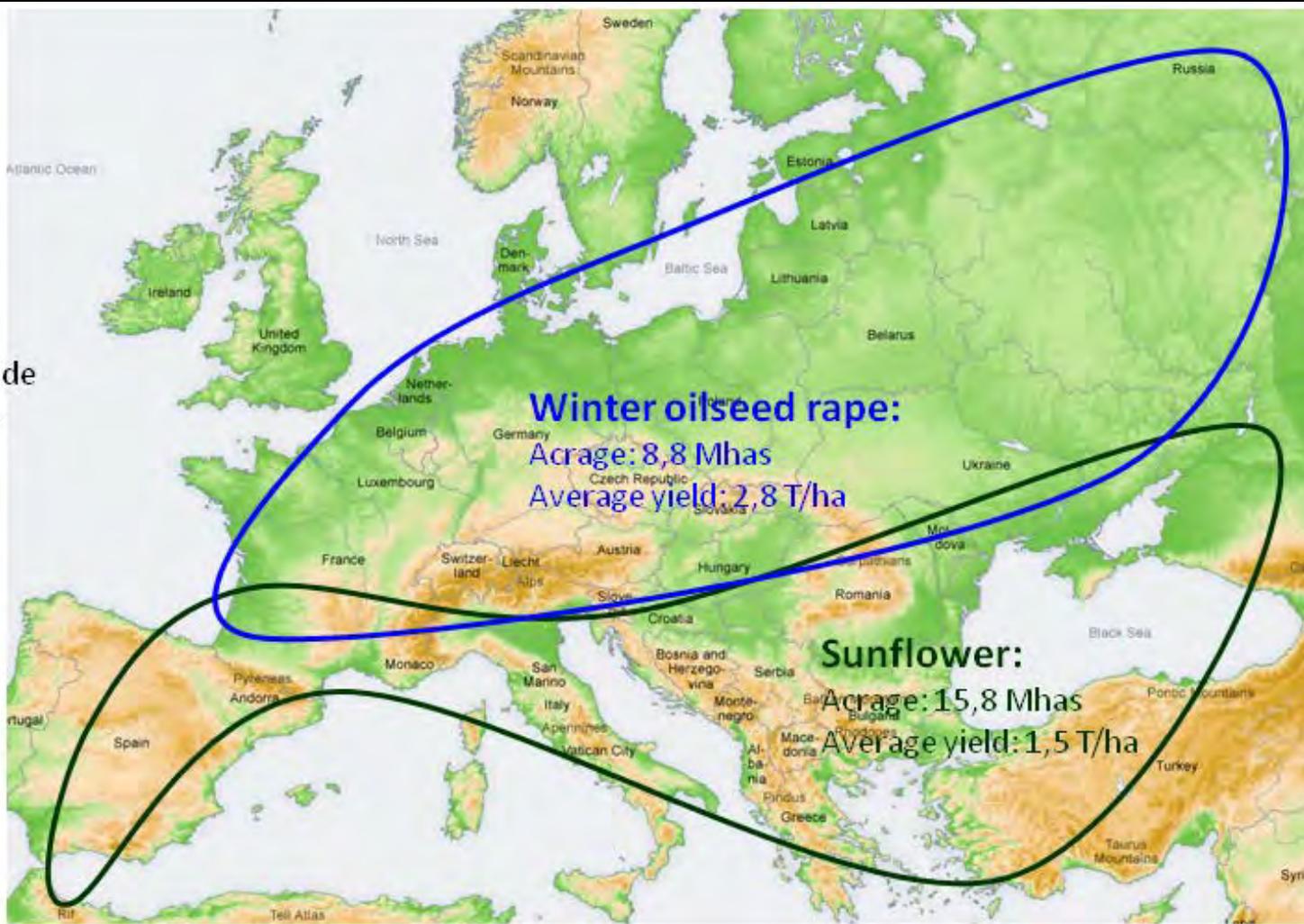
Sunflower is the southern oilseed crop



Winter crop,
higher yield,
high nitrogen, pesticide
and fungicide inputs

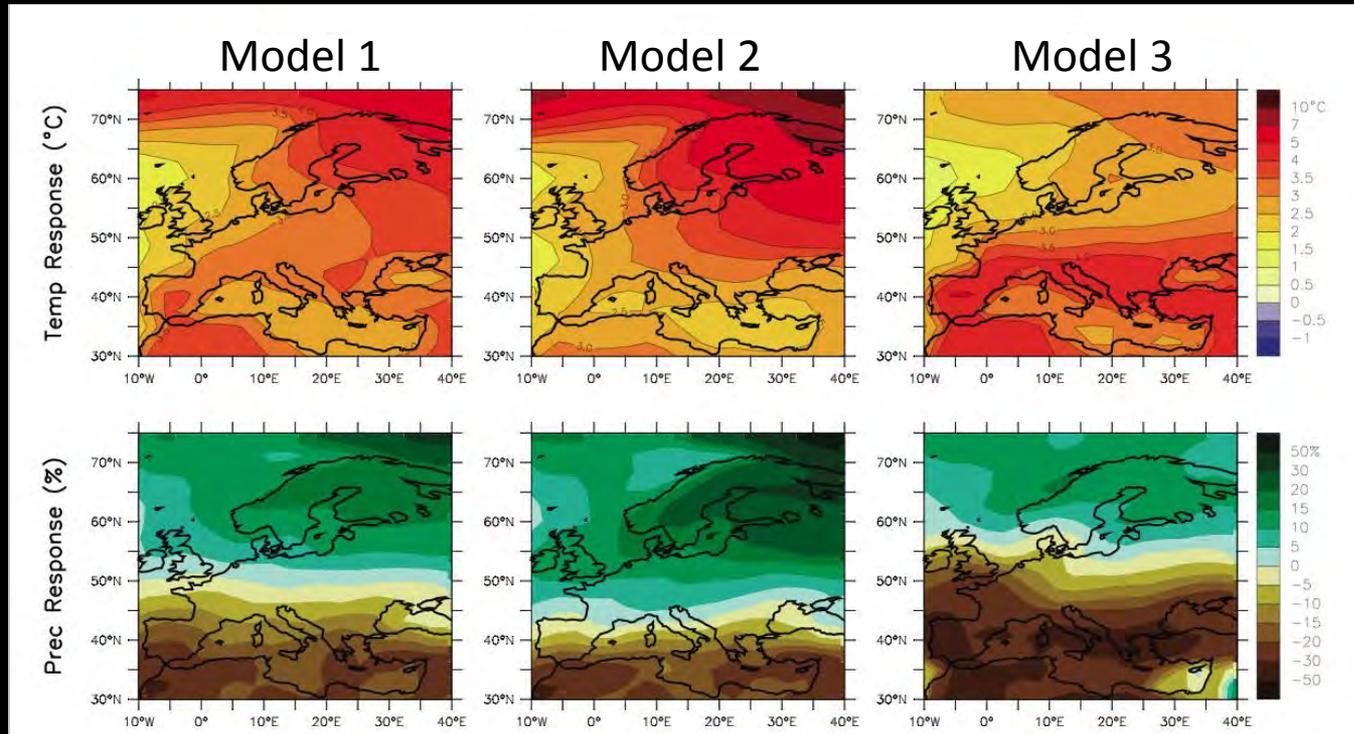


Summer crop,
lower yield,
« environmentally
safer »



Sunflower and climate change

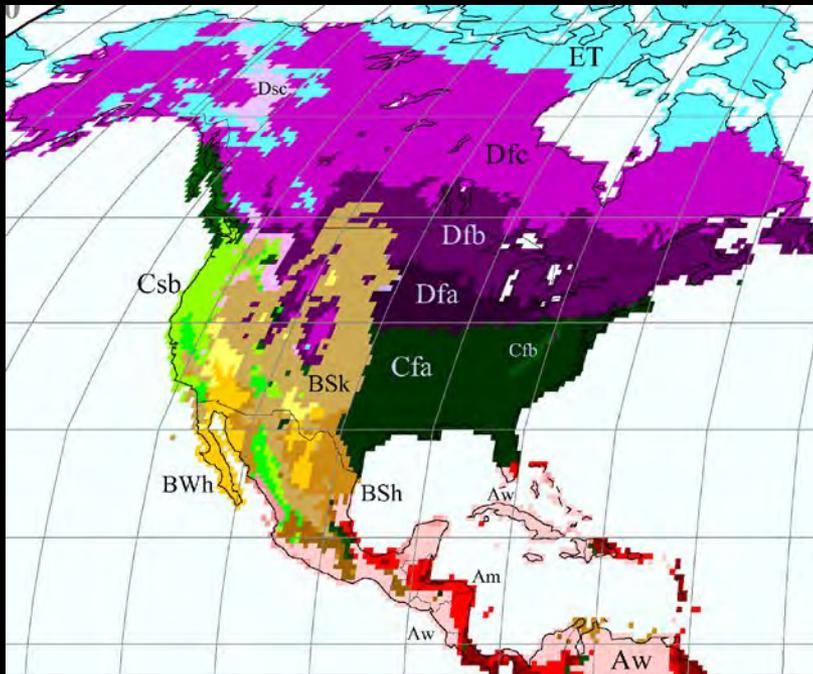
Predicted temperatures and rainfall in 2080-2090 as compared to those in 1980-1999



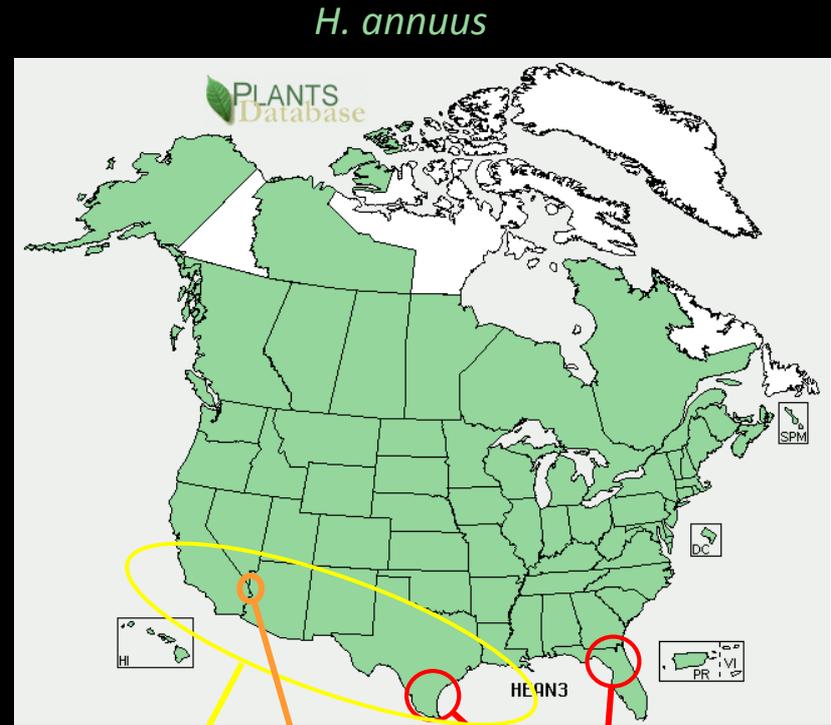
- 40% in summer rainfall → - 24% sunflower yield (France)

Natural variation in *Helianthus*

62 native species in North America



Kottek et al., 2006



H. niveus

H. niveus ssp tephrodes

H. argophyllus

November 20th 2013, Toulouse

Natural variation in *Helianthus*



Challenges to construct a sunflower ideotype with improved performance in water-limiting conditions

What physiological processes are affected during drought stress in the field?

What genetic network control those physiological processes?

What is the natural variation available for breeding in these networks and what can evolution teach us?

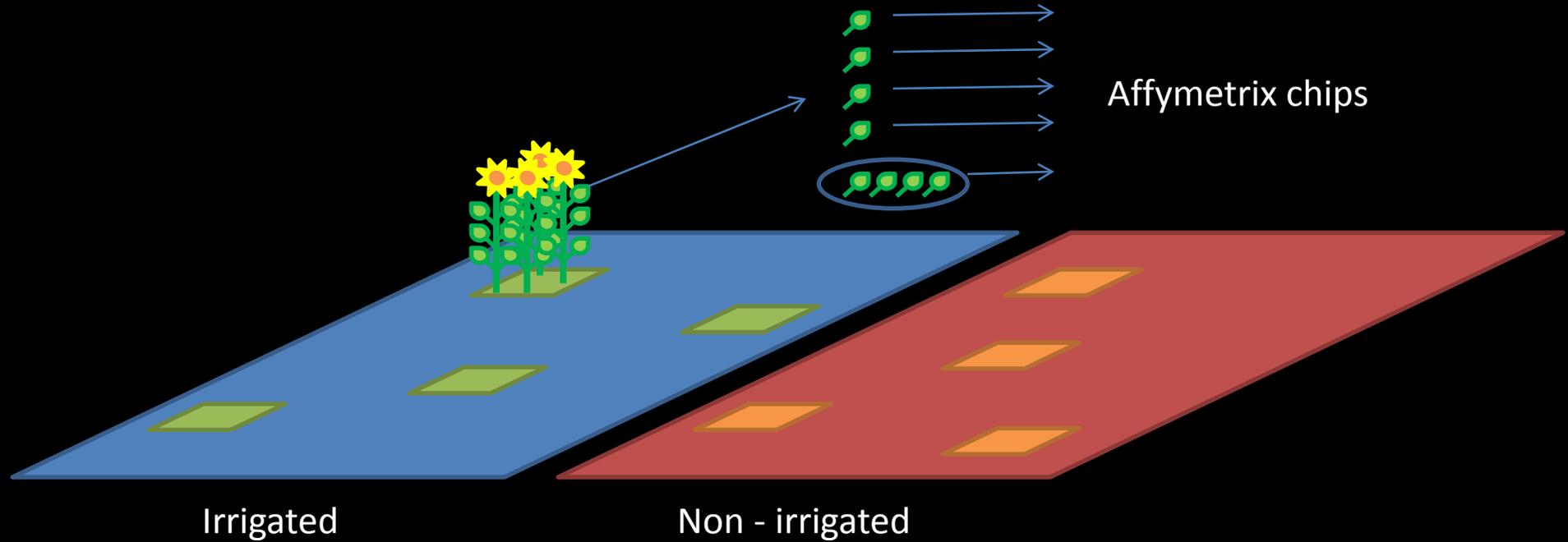
How does it affect oil yield?

...

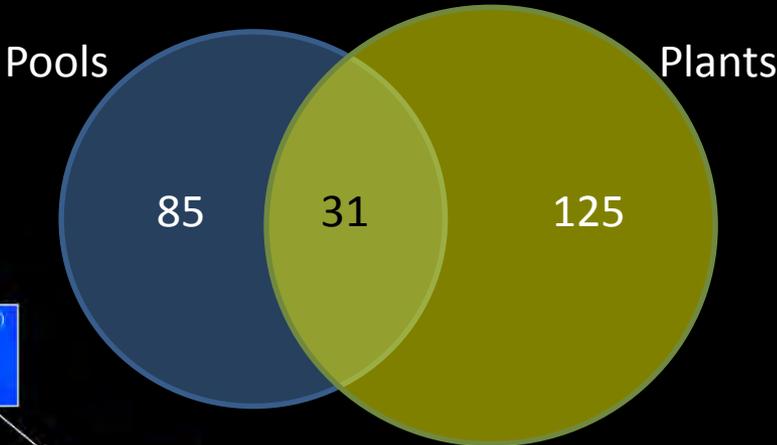
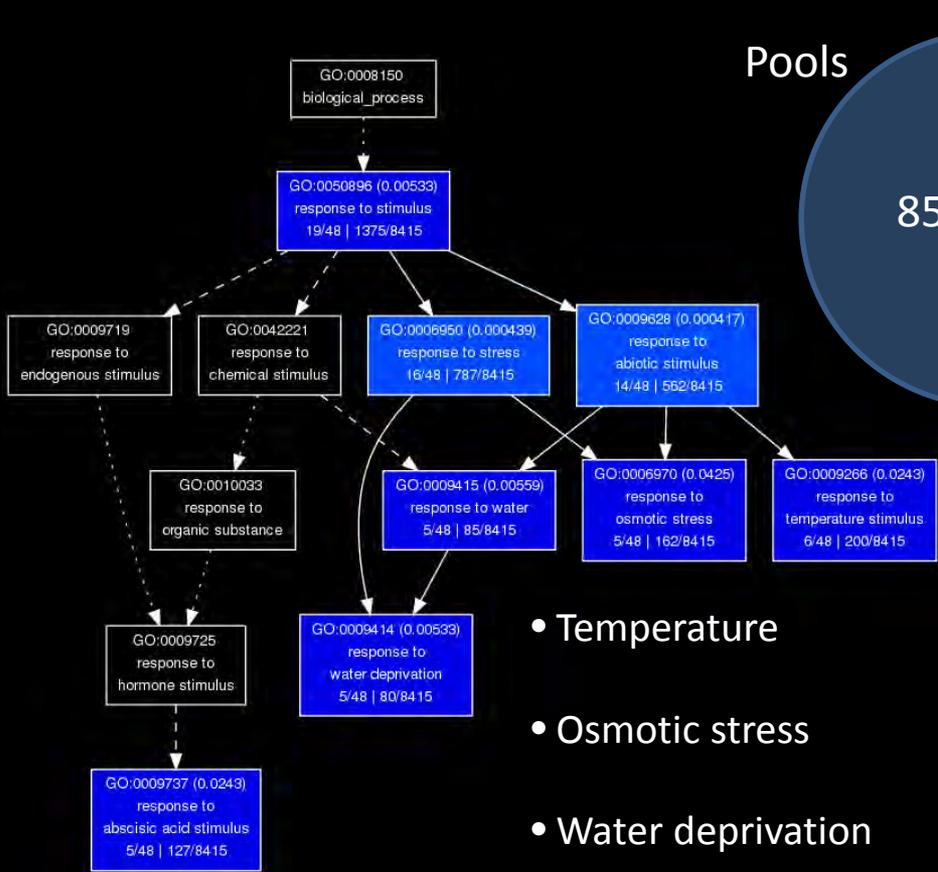
Transcriptomic description of drought stress
Field conditions

Objectives

- Identify drought-regulated genes in a field environment in a reference hybrid
- Validate sampling methods



Transcriptomic description of drought stress
Field conditions



- Temperature
- Osmotic stress
- Water deprivation
- ABA stimulus

Many questions !!!

Transcriptomic
description of drought
stress
Field conditions

Many questions:

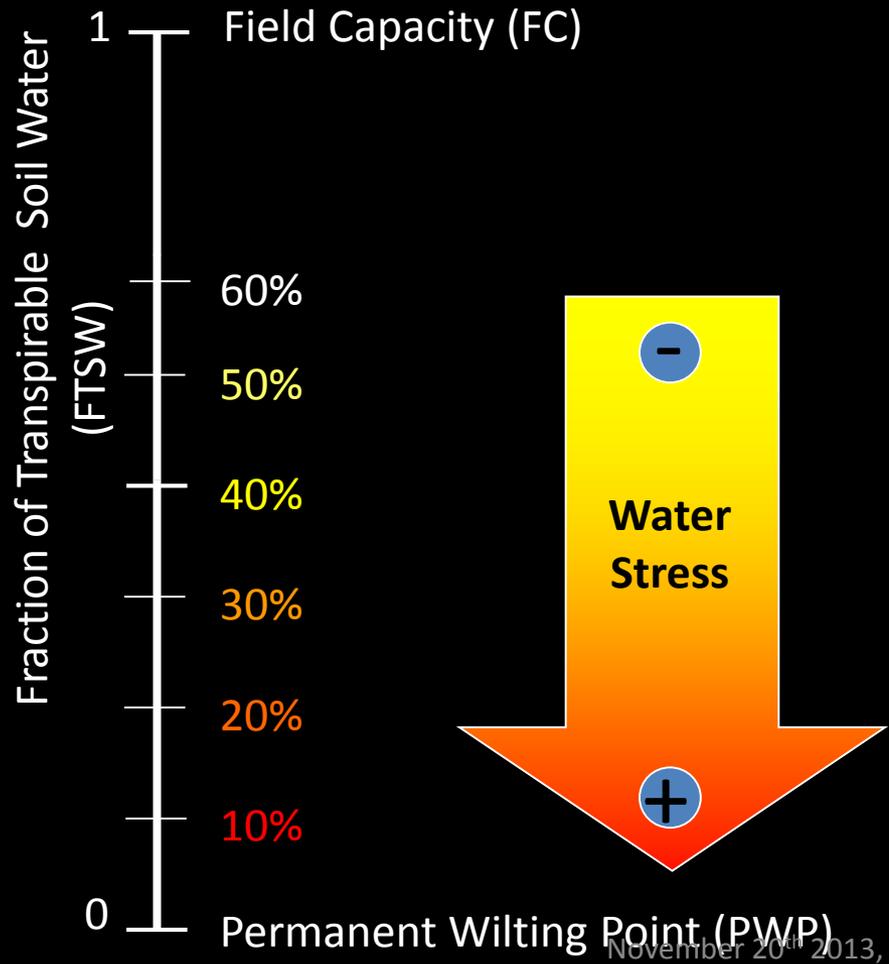
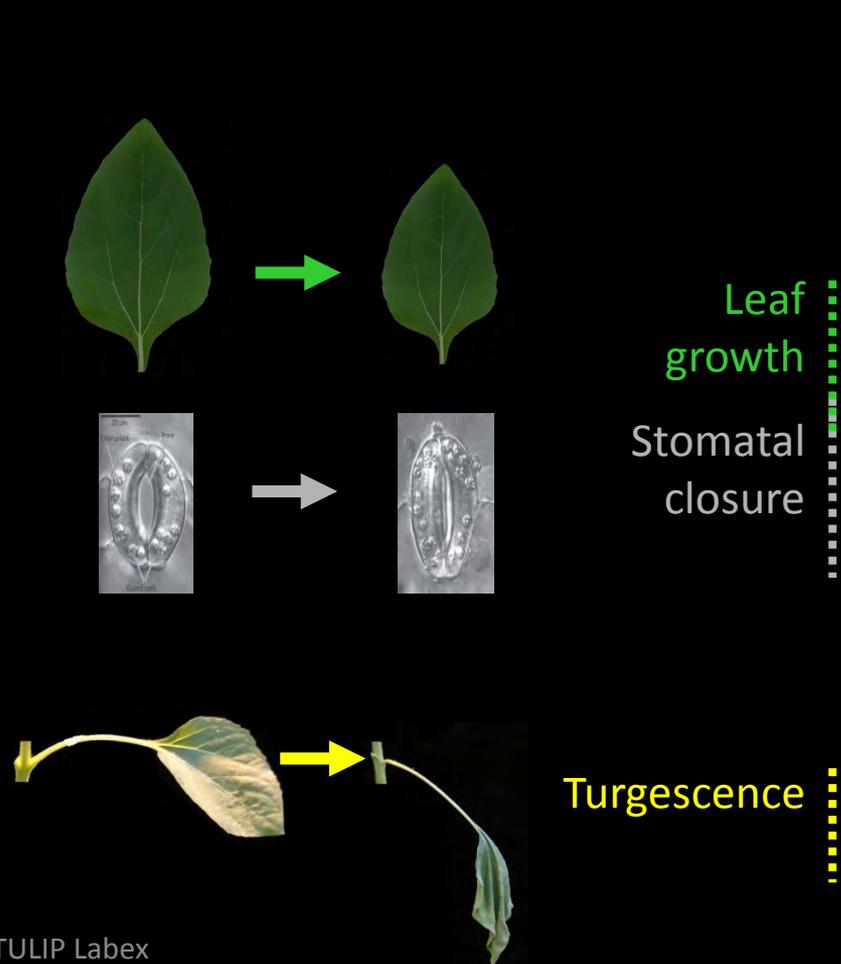
What is the real stress intensity in the field?

What physiological processes are affected during drought stress in the field?

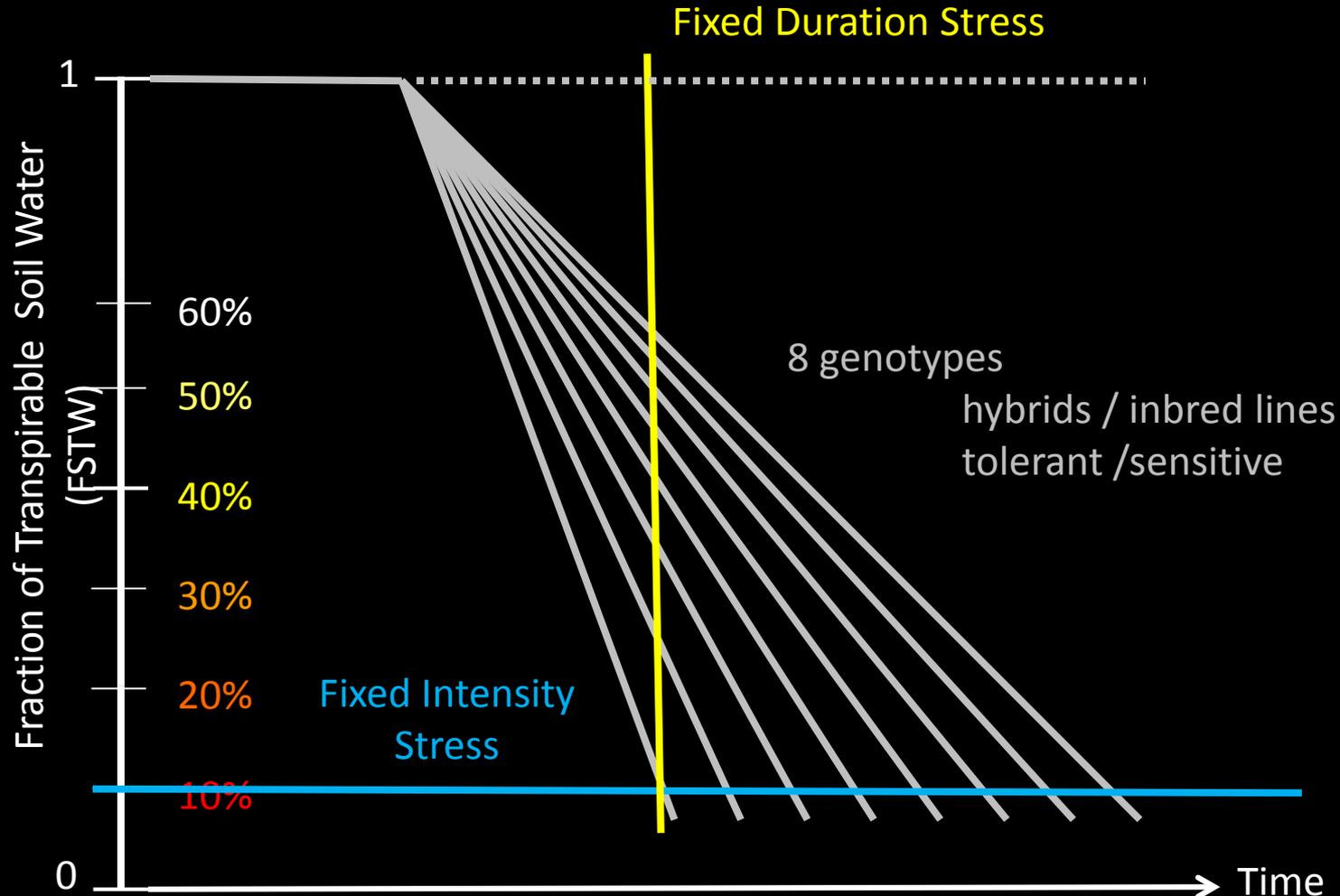
What genetic network control those physiological processes?

Gene and physiological response networks of drought stress

Controlled conditions



Gene and physiological response networks of drought stress
Controlled conditions



Gene and physiological response networks of drought stress

Controlled conditions



PHENOTYPIC PARAMETERS

Integrated stress $\int 1-FSTW$

Specific Leaf Area (SLA)

Plant height (PHe)

Collar diameter (CoD)

Osmotic potential (OP)

Relative water content (RWC)

Photosynthesis

Transpiration (ET)

Water Use Efficiency / $(\Delta^{13}C)$

Gene and physiological response networks of drought stress

Controlled conditions

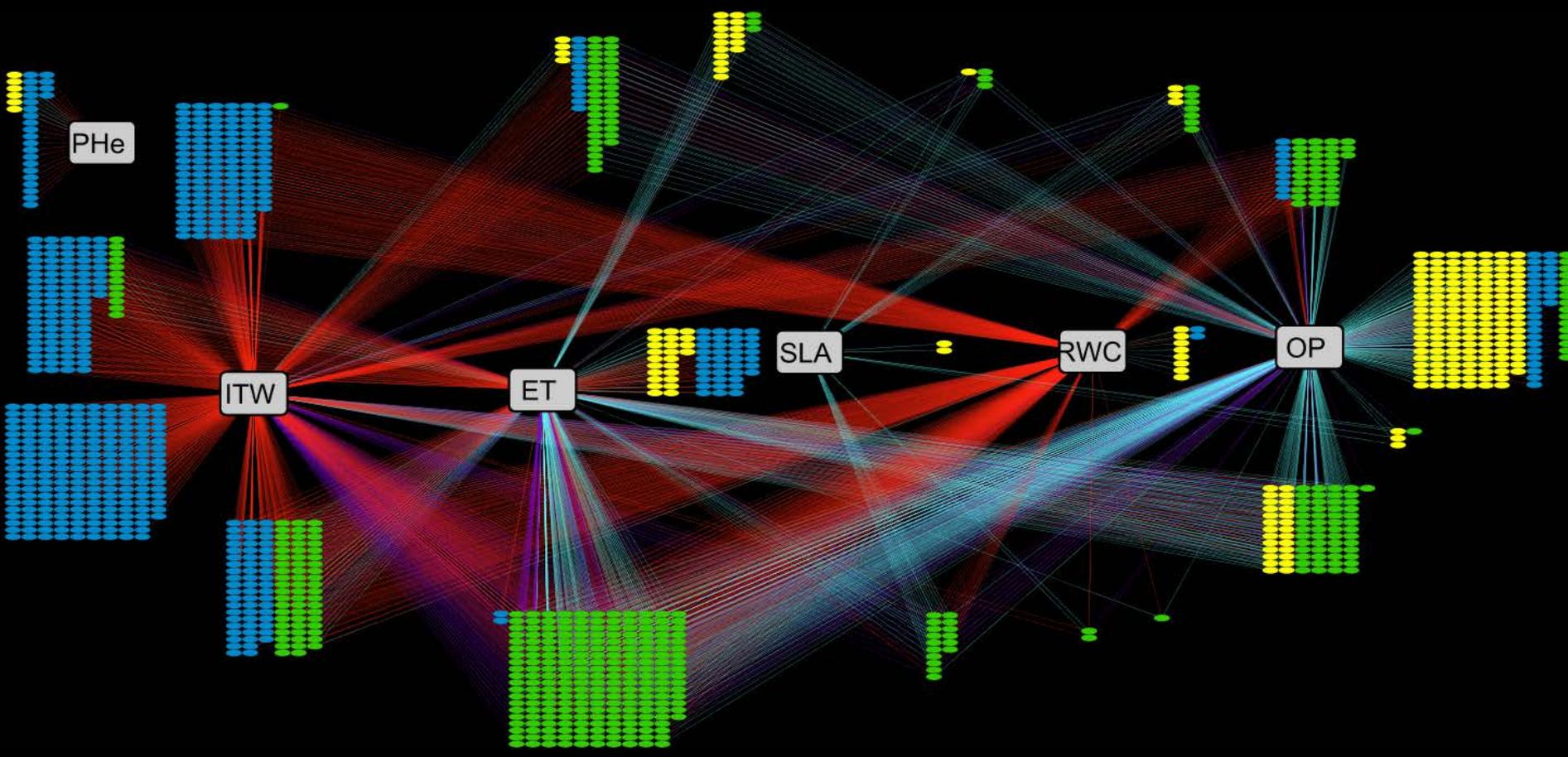


Dimensionnality problem
Highly correlated phenotypic traits



Sparse Partial Least Squares
using mixOmics R package

Gene and physiological response networks of drought stress
Controlled conditions



Fixed intensity stress



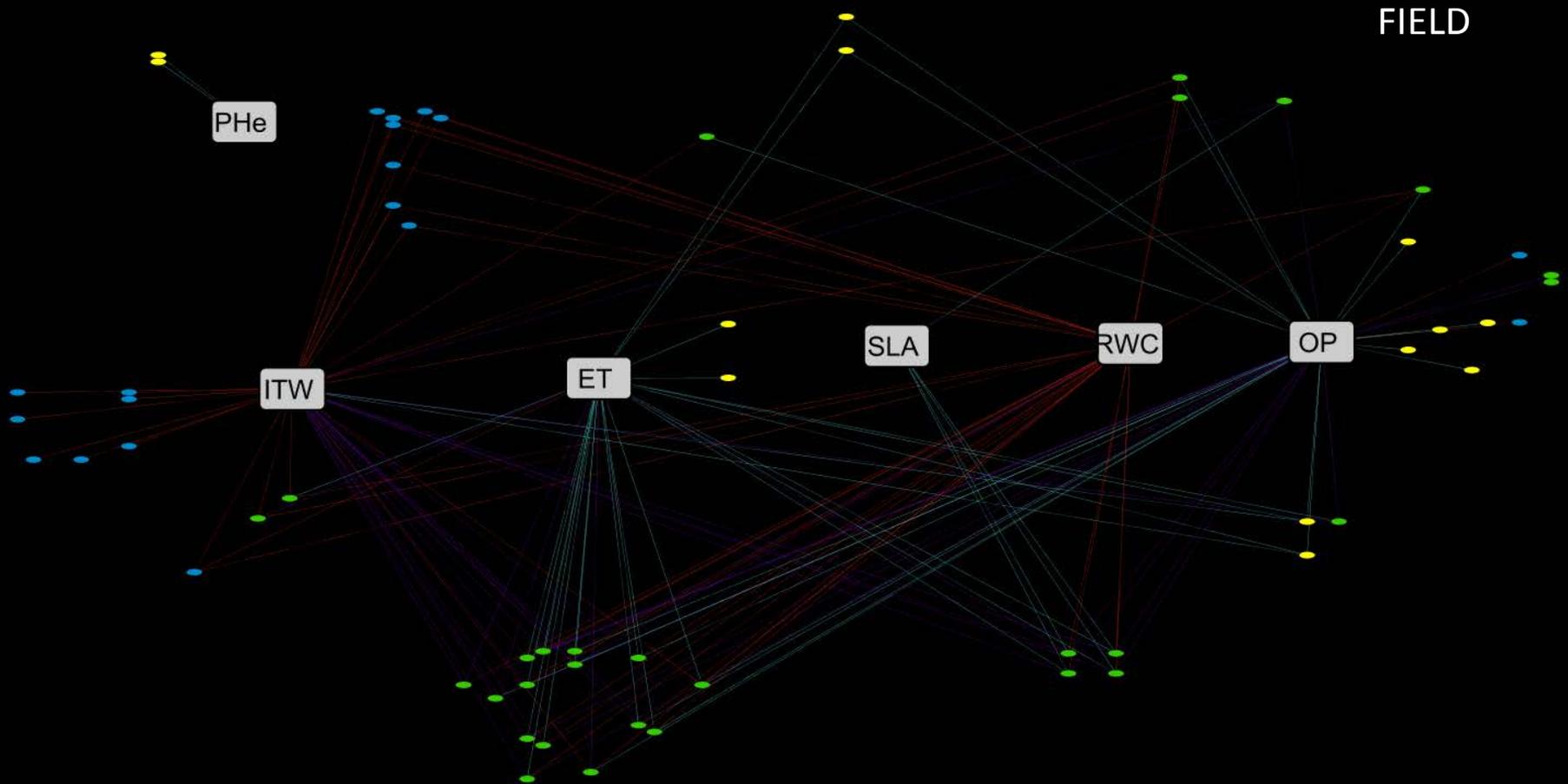
Fixed duration stress



Both

Gene and physiological response networks of drought stress

Controlled conditions



FIELD



Fixed intensity stress



Fixed duration stress



Both

Gene and physiological response
networks of drought stress
Controlled conditions

Some answers in controlled conditions:

Adjustment of osmotic potential is early and associated to transpiration

ABA induced genes are very important but do not show *genotypic variability*

We identified genes highly correlated to

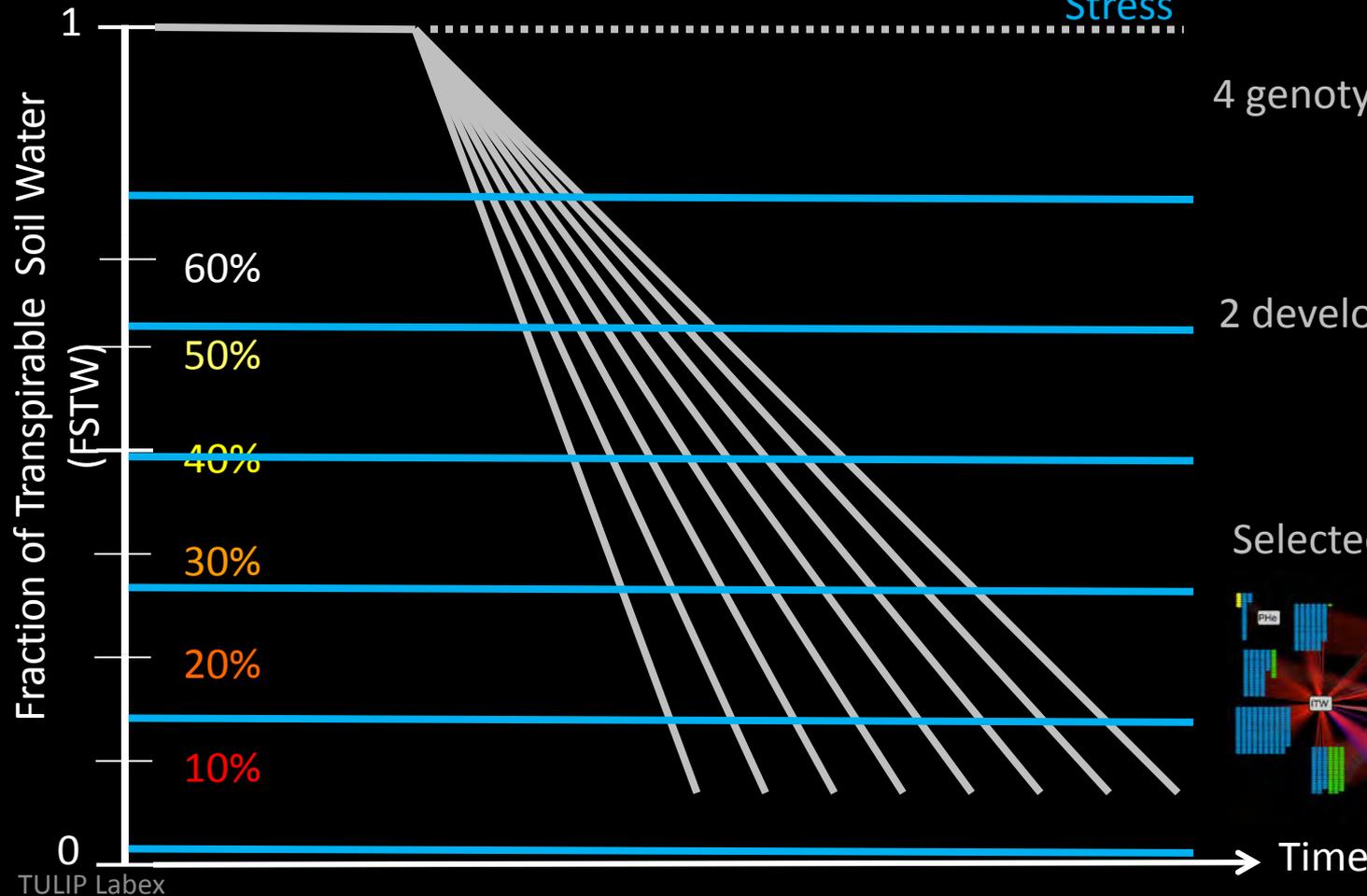
- physiological processes: transpiration, osmotic potential, ...
- stress intensity

Confirms field experiments

From this, can we construct a **predictive model** for natural/field conditions?

Predictive model of drought stress intensity and physiological responses
Controlled conditions

Range of Fixed Intensity Stress

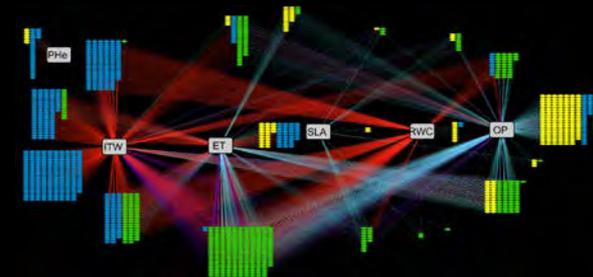


4 genotypes
hybrids / inbred lines
tolerant / sensitive

2 developmental stages



Selected genes



Predictive model of drought stress intensity and physiological responses
Controlled conditions

Water status =

$$+ a_1 * dCt_1$$

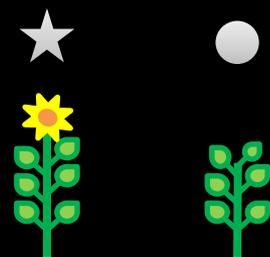
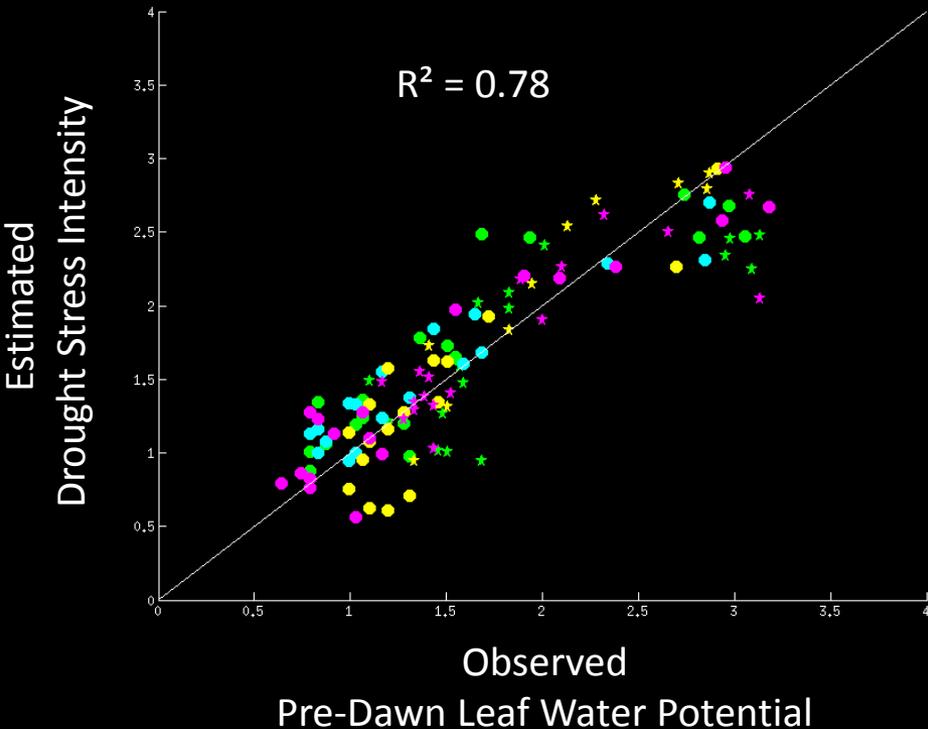
$$+ a_2 * dCt_2$$

$$+ a_3 * dCt_3$$

$$+ k$$

HaT13I002207
HaT13I002636
HaT13I005199

tubulin
GBF3
XTR7 concanavalin



Inbred lines

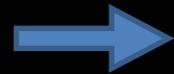
XRQ PSC8

Hybrids

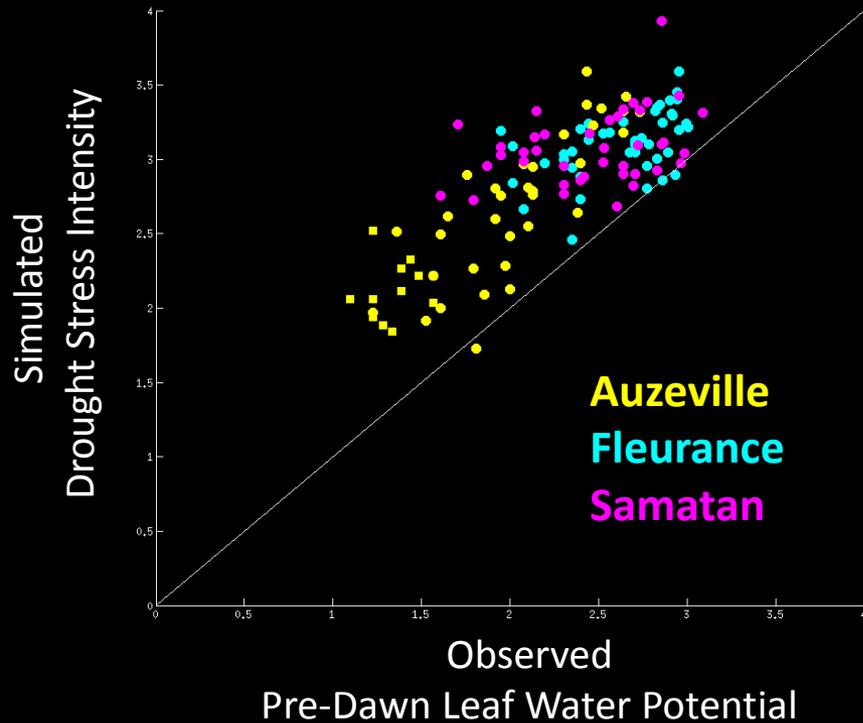
Inedi Melody

Predictive model of drought stress intensity and physiological responses
Field conditions

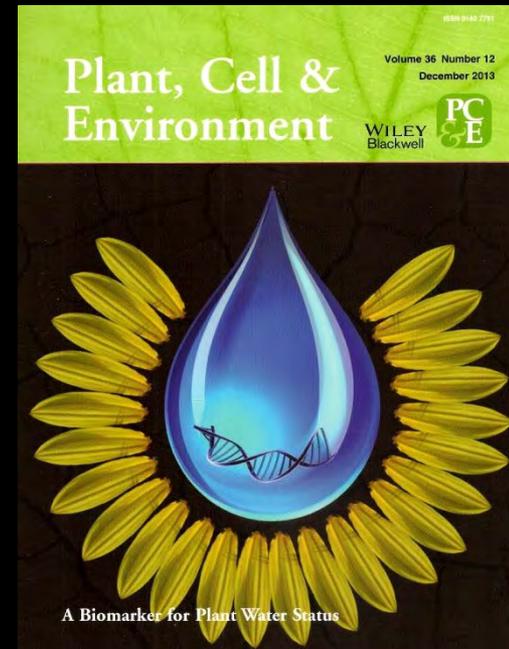
Validation on field data



Estimation of drought stress intensity in natural/field conditions



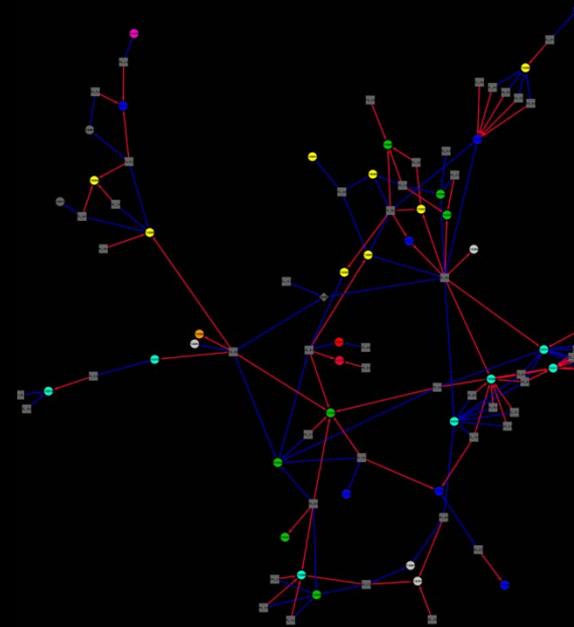
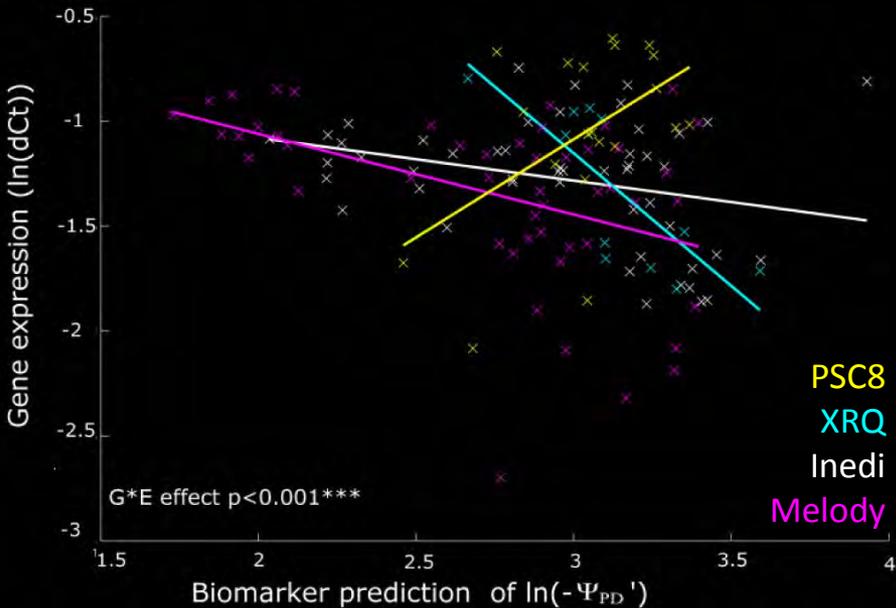
Development of a biomarker



Study of Genotype – Environment Interactions
Field conditions

One gene
Few genotypes
Many harvests => many environments
HaT13|002164 HAP2A

10s of genes
Many genotypes (genetic panel)
One harvest => estimated environments



Genetic markers
↓
Transcripts
↓
Physiol. responses

Corrected with biomarker
Non-corrected with biomarker

Predictive model of drought stress intensity and physiological responses
Field conditions



Drought stress intensity (FSTW)

PHENOTYPIC PARAMETERS

Osmotic potential (OP)

Relative water content (RWC)

Photosynthesis

Transpiration (ET)

Water Use Efficiency ($\Delta^{13}\text{C}$)

Challenges to construct a sunflower ideotype with improved performance in water-limiting conditions

What physiological processes are affected during drought stress in the field?

What genetic network control those physiological processes?

What is the natural variation available for breeding in these networks and what can evolution teach us?

How does it affect oil yield?

Challenges to construct a sunflower ideotype with improved performance in water-limiting conditions

What physiological processes are affected during drought stress in the field?

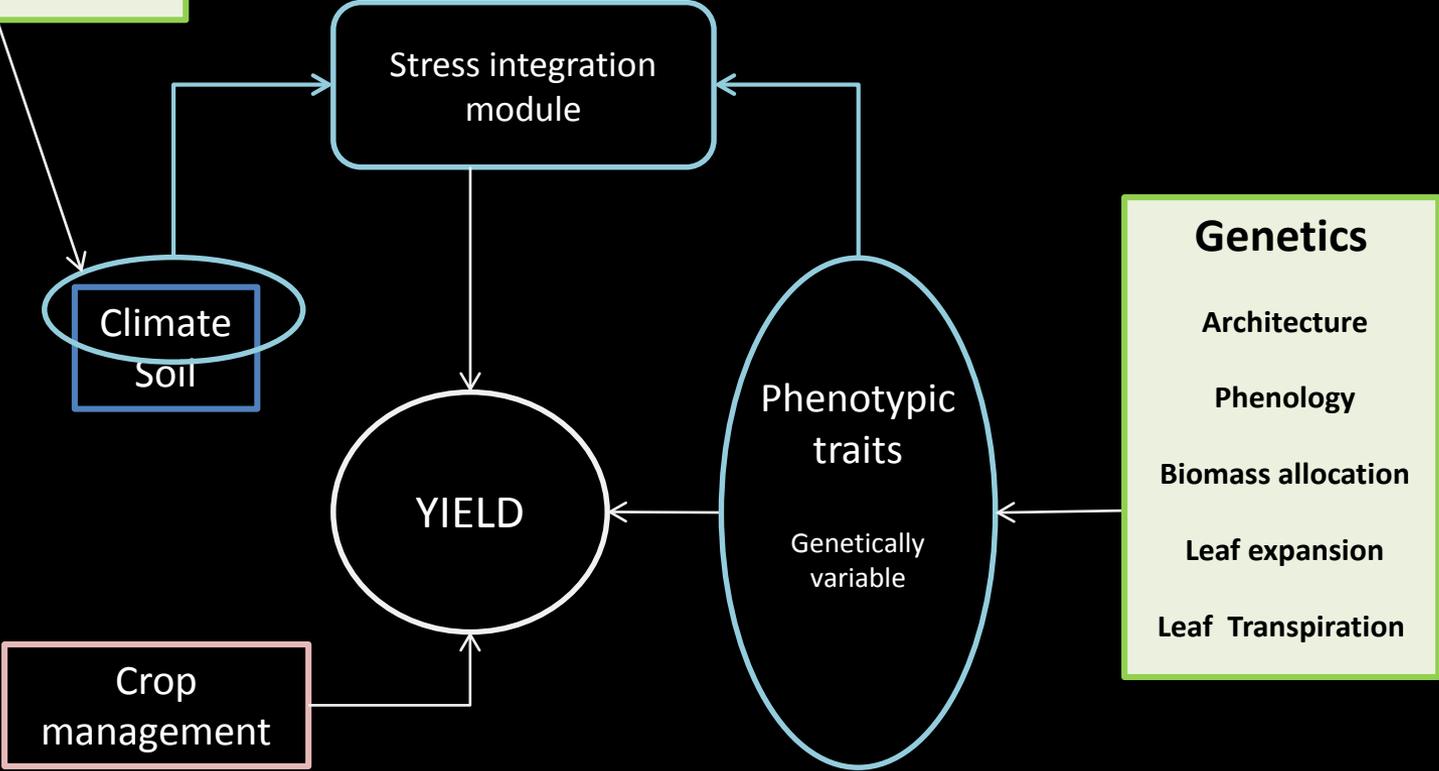
What genetic network control those physiological processes?

What is the natural variation available for breeding in these networks and what can evolution teach us?

How does it affect oil yield?

Identification of phenotypic traits related to drought tolerance in cultivated sunflower
 Crop model (coll. AGIR)
 Field phenotyping

Transcriptomics
 Estimation of FTSW



Schematic representation of sunflower crop model Sunflo (Casadebaig et al., 2010)

Development of infrastructures, genomic and genetic tools

Phenomics

Phenome: Auzeville field phenotyping platform (coll. AGIR 2013)

Heliaphen: Outdoor plant phenotyping platform (2013)

Genomics

Microarray chip (expression and genotyping => 2008)

Reference transcriptome (LIPM bioinfo www.heliagene.org => 2012)

Reference genome (LIPM bioinfo, CNRGV, UBC => early 2014)

Resequencing genomes (2013: >70, in coll. with US and Canada >300)

Genetics

Mutant population (EMS)

Introgression lines (NAM)

Association panel



N. Blanchet



M.-C. Boniface



E. Cadic



G. Marchand



B. Mayjonade



B. Mangin



S. Muños

Et tout le reste
de l'équipe!



N. Pouilly



D. Rengel



D. Varès



P. Vincourt

Many thanks to our collaborators

Bioinformatics: J. Gouzy, S. Carrère

Agronomist Ecophysiolgist: P. Casadebaig, P. Maury, Ph. Burger, Ph. Debaecke

Evolutionary biologists: L. Rieseberg, N. Kane

Mathematicians: M. Vignes

Genomics: H. Bergès, A. Bellec, S. Vautrin, W. Marande

Experimental Station Auzeville: A. Gavaland, J.-M. Nolot

Plant transcriptomics: S. Balzergue

Technical institute: CETIOM

***Sunflower biotech and breeders: Biogemma, Caussade, Maisadour,
RAGT 2N, Soltis, Syngenta***

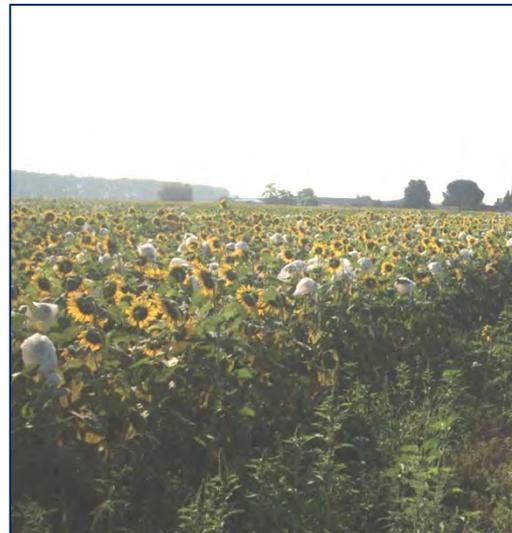
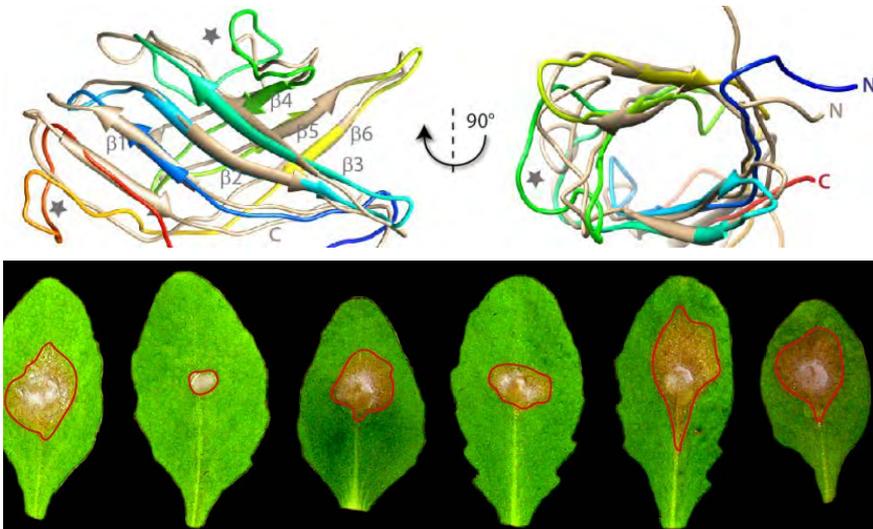


Quantitative Disease Resistance and crop protection

Sylvain Raffaele/Dominique Roby



Laboratoire des Interactions Plante-Microorganismes (LIPM)
UMR 441/2594 INRA-CNRS - Toulouse



The quest for resistance durability

“Durable” = remains effective in cultivars that are widely grown for long periods and in environments favorable to the disease (Johnson 1983)

Rapid evolution of virulence
towards race-specific R genes with high resistance levels

Ex: Wheat leaf rust



R.P. Singh, 2012

Variety	Resistance genes	Year	
		Released	Breakdown
<u><i>Bread Wheat:</i></u>			
Yecora 70	<i>Lr1, 13</i>	1970	1973
Tanori 71	<i>Lr13, 17</i>	1971	1975
Jupateco 73	<i>Lr17, 27+31</i>	1973	1977
Genaro 81	<i>Lr13, 26</i>	1981	1984
Seri 82	<i>Lr23, 26</i>	1982	1985
Baviacora 92	<i>Lr14b, 27+31</i>	1992	1994
<u><i>Durum Wheat:</i></u>			
Altar 84	<i>LrAlt</i>	1984	2001
Jupare 2001	<i>LrAlt, 27+31</i>	2001	2007

Durable resistance is often quantitative

Lr34 is a gene for durable Quantitative Disease Resistance (QDR)

Partial resistance (slow rusting)

☹ Associated with leaf tip necrosis

Reduced efficiency in certain genetic backgrounds

😊 Broad spectrum (powdery mildew, leaf rust, stripe rust, spot blotch...)

Effective against leaf and stripe rust for >100 years in the field

Thatcher



Thatcher + *Lr34*



Quantitative disease resistance, major unknown in plant immunity

Classical 'qualitative'
resistance:

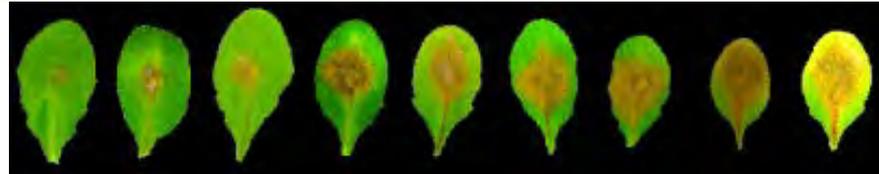


SUSCEPTIBLE



RESISTANT

QDR
Quantitative
Disease Resistance



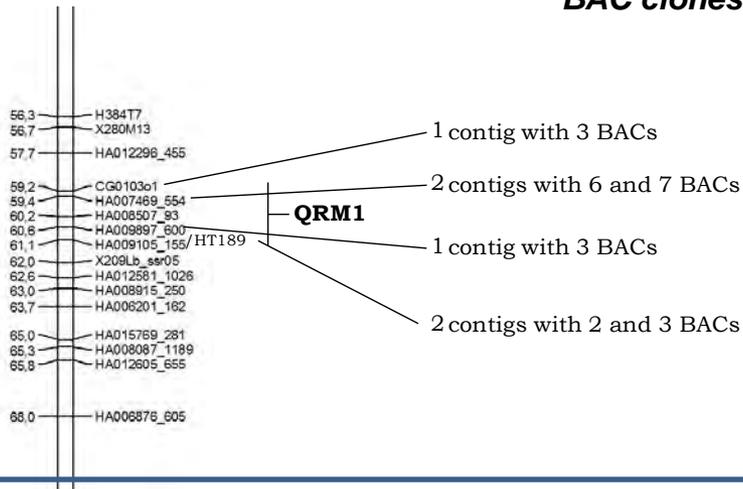
- **Molecular determinants mostly unknown:**
a millefeuille of small-effect resistance mechanisms ?
- **Governed by complex (multigenic) interplays**
between plant resistance & pathogenicity determinants

Resistance to downy mildew in Sunflower

Laurence Godiard and Stéphane Munos, Equipe P. Vincourt, LIPM

Map-based cloning of the QRM1 QTL

The 0.9 cM region of QRM1 is covered by at least 21 BAC clones



Conserved effectors and identification of components of durable resistance



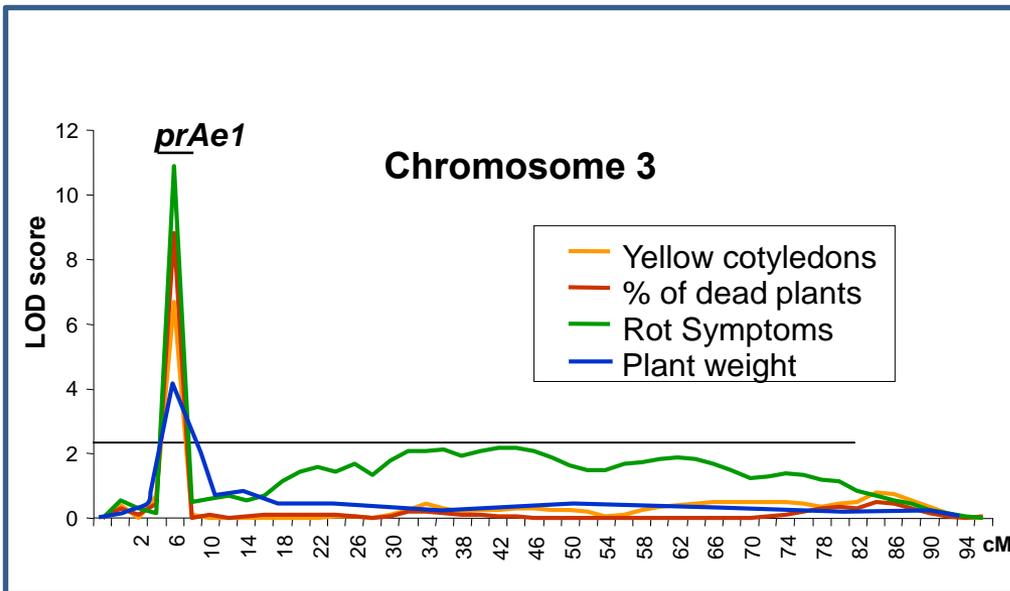
- 1. Identification of conserved effectors**
- 2. Effector variability in pathogen populations**
- 3. Transient expression of effectors**
- 4. Identification of durable resistance genes**

Quantitative resistance to *Aphanomyces euteiches*, a major pathogen of legumes

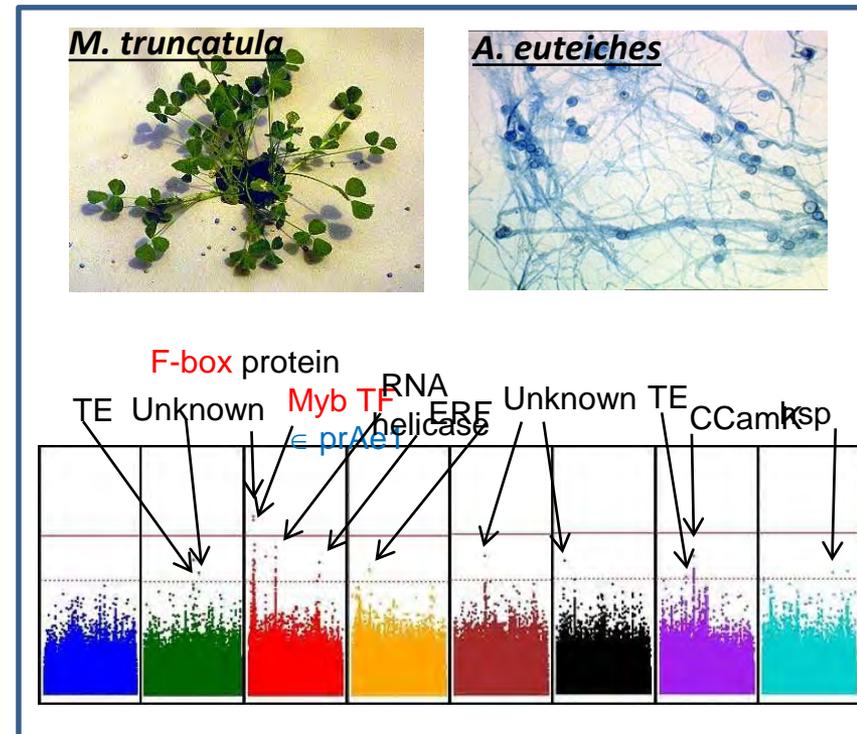
Christophe Jaquet et col, Equipe B. Dumas, LRSV

Identification of one major locus, prAe1-AER1

Genome wide association mapping



**Classical forward genetic approaches:
Development and exploitation of RIL and NIL**

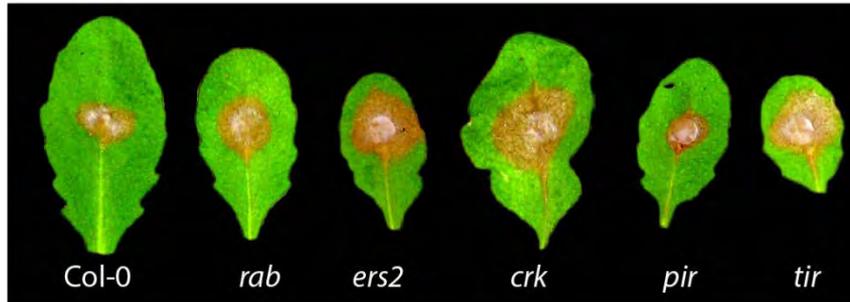


**Large scale exploitation of natural variation:
identification of candidate genes**

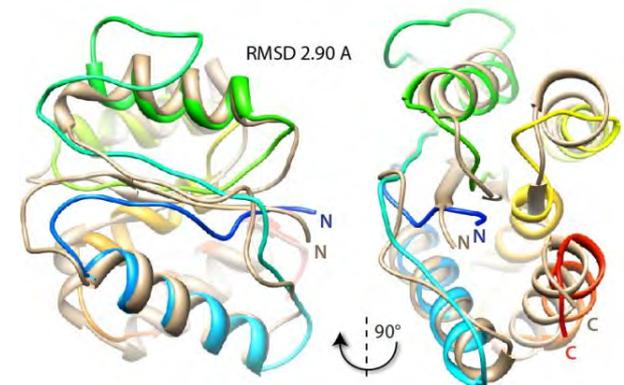
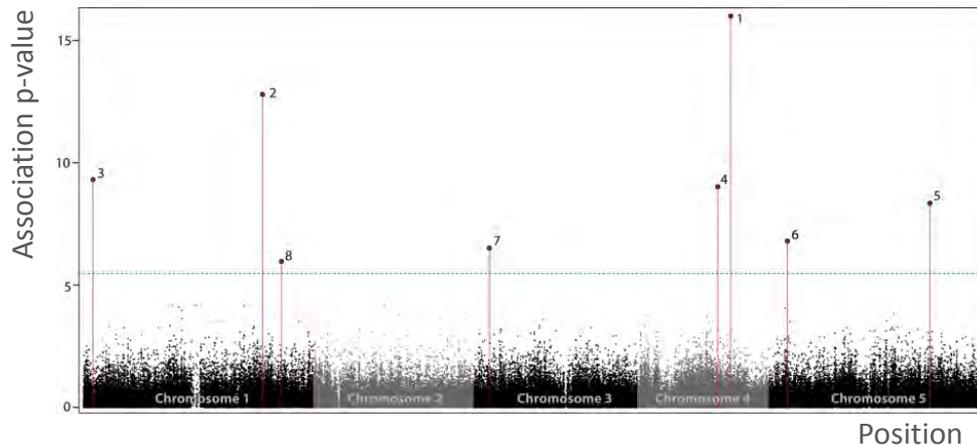
Unravelling novel molecular mechanisms of quantitative resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*, a necrotrophic pathogen

Sylvain Raffaele, Claudine Balagué et col, Equipe D. Roby, LIPM

GWA mapping of resistance genes

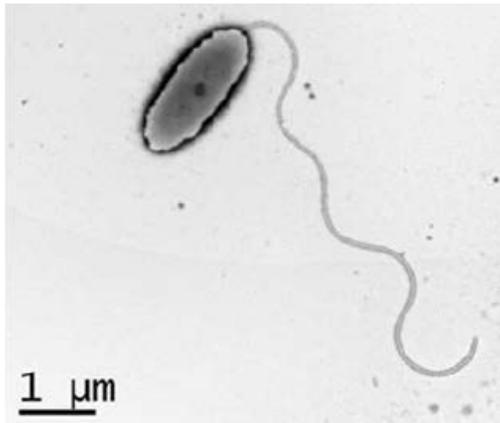


Search for conserved effector and their putative targets as a strategy for QDR component identification



Towards the molecular bases of QDR to the black rot of crucifers

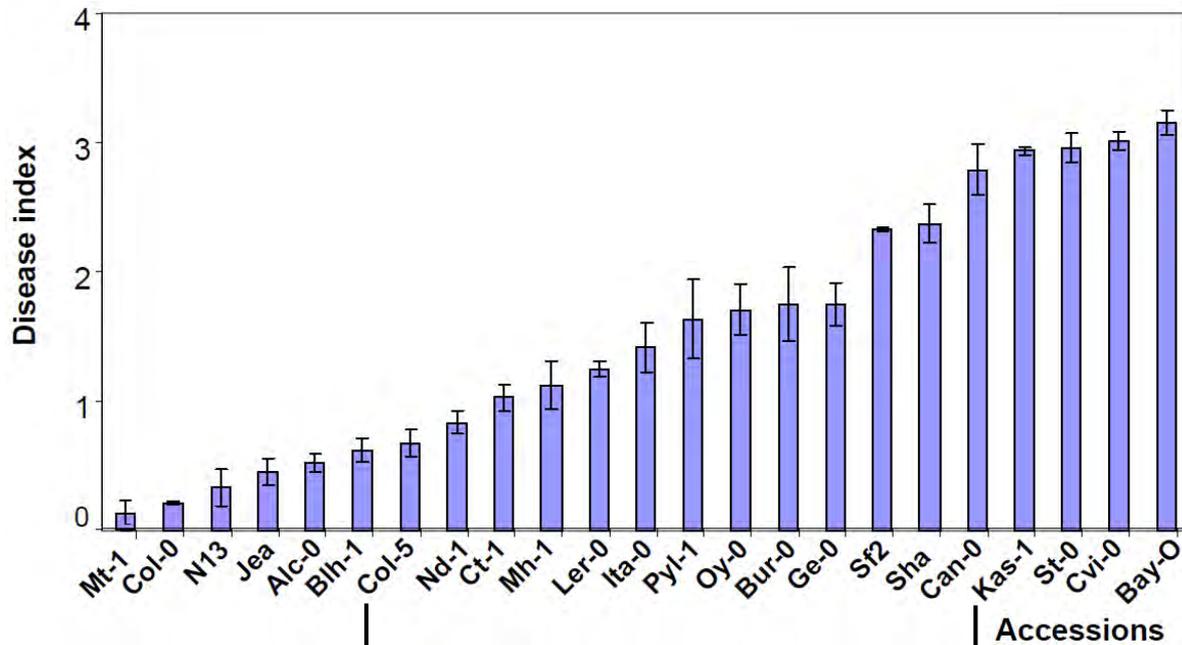
Bacterial pathogen *Xanthomonas campestris* pv *campestris* (Xcc)



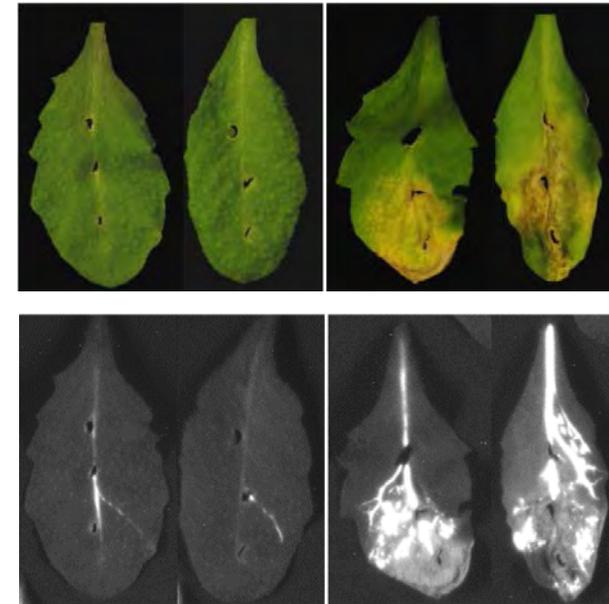
‘the most important disease of vegetable brassica crops worldwide’

Resistance to *Xcc* in *Arabidopsis* is quantitative

Natural variation in QDR to *Xcc* strain 568 among 23 *A. thaliana* accessions



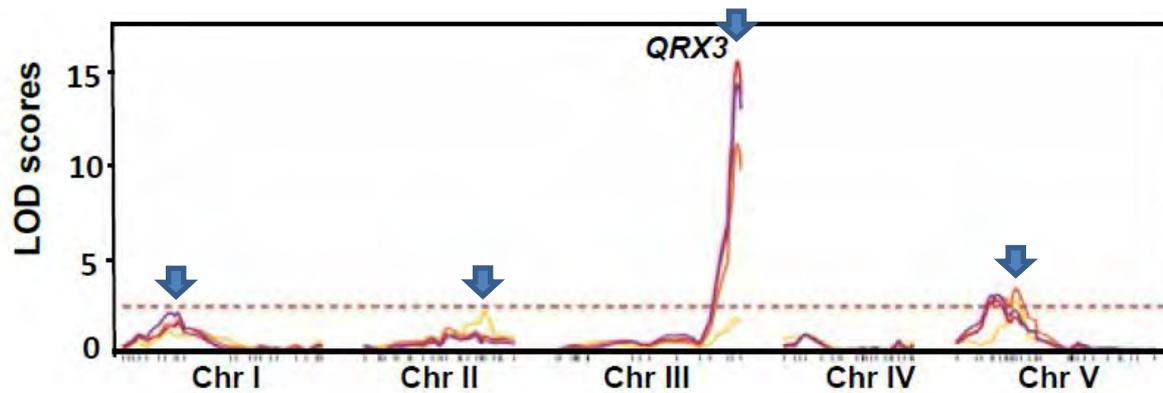
Col-5 x Kas-1 RILs population
(110 F₆ RILs)



Col-5

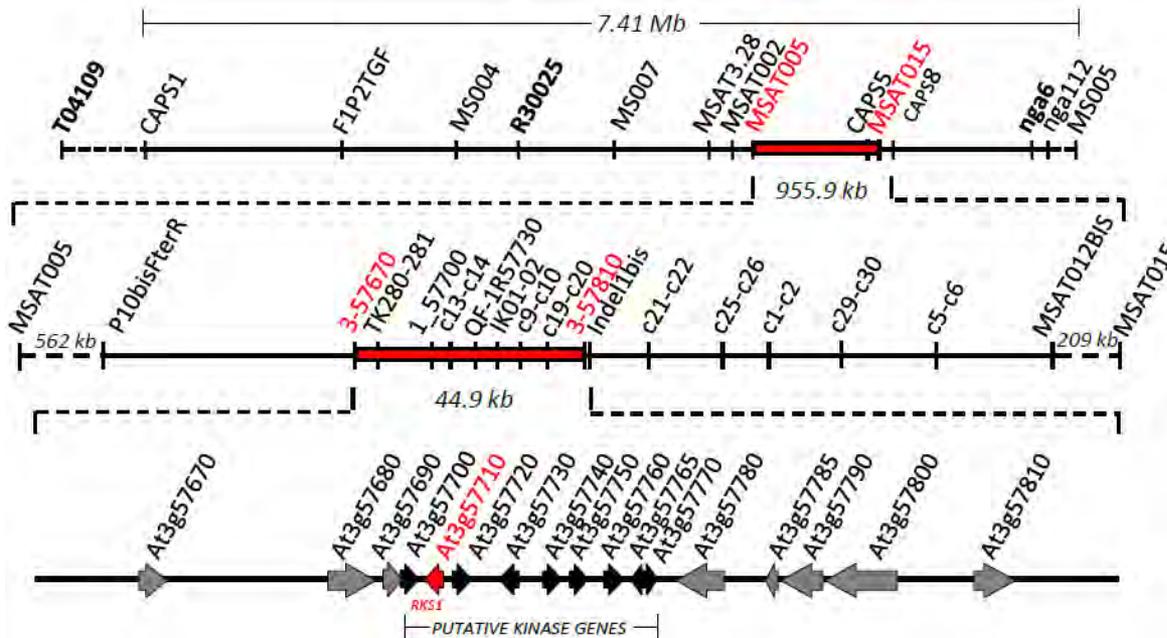
Kas-1

Mapping of QTLs for Xcc 568 resistance



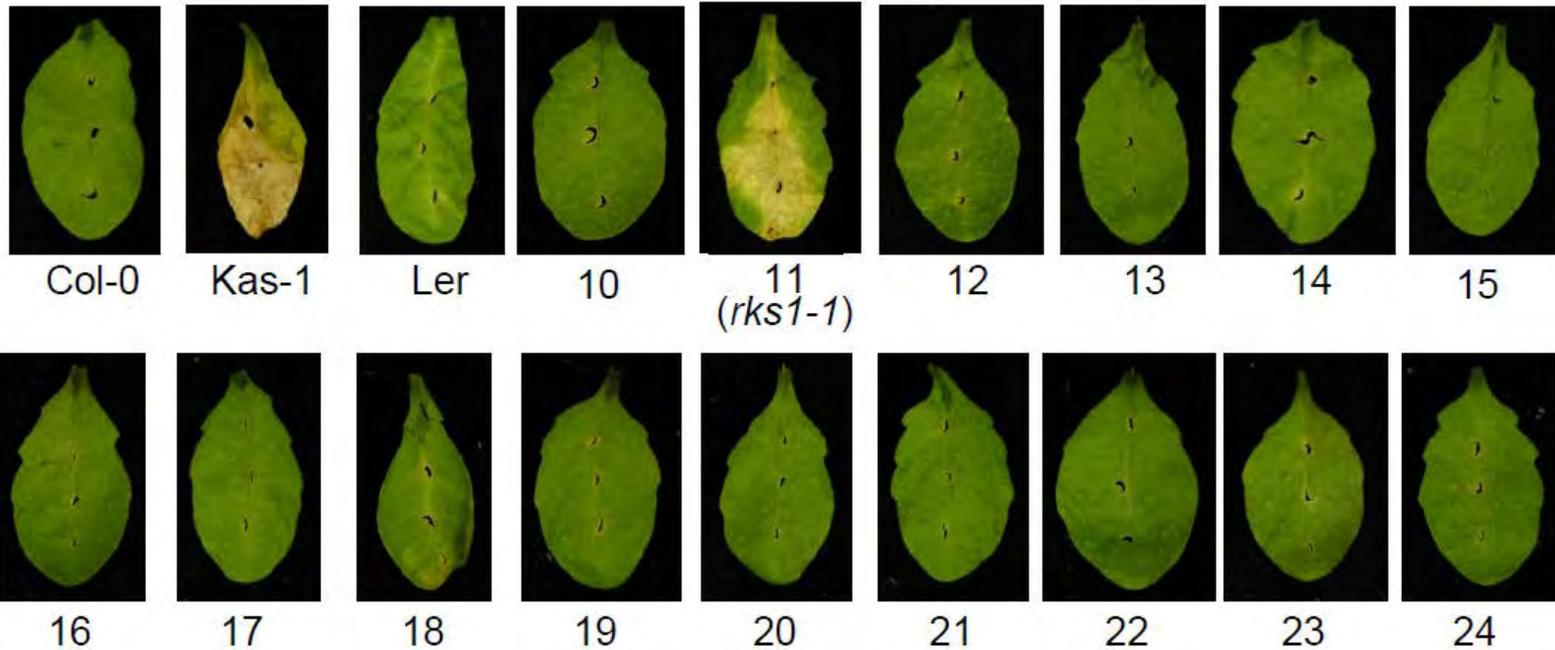
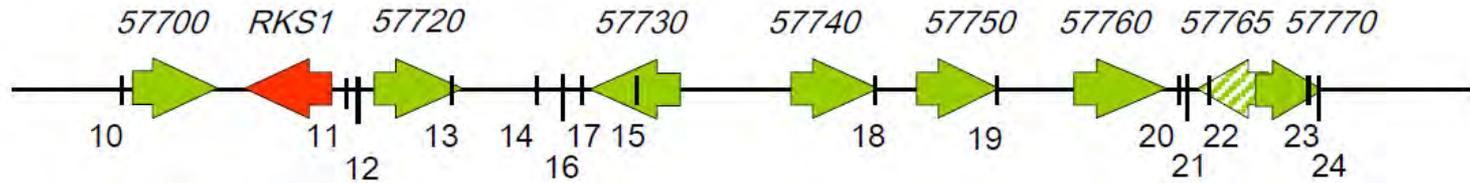
4 QTLs
80.4% of variance

Mapping of QRX3



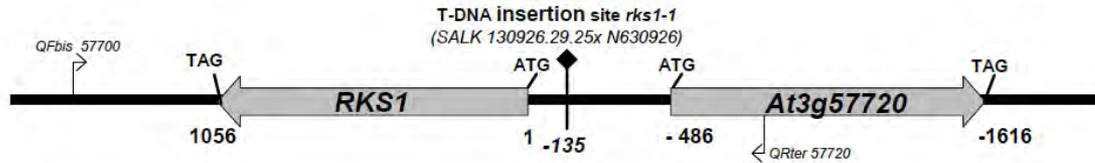
17
candidate
genes

Phenotype of candidate genes insertional mutants



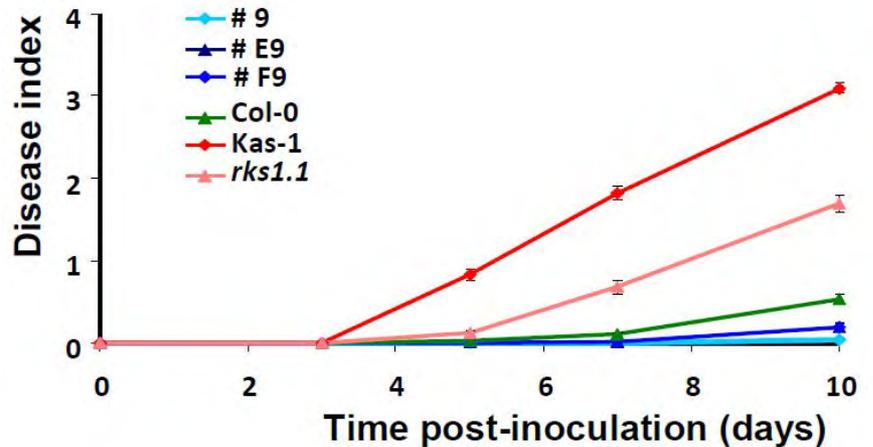
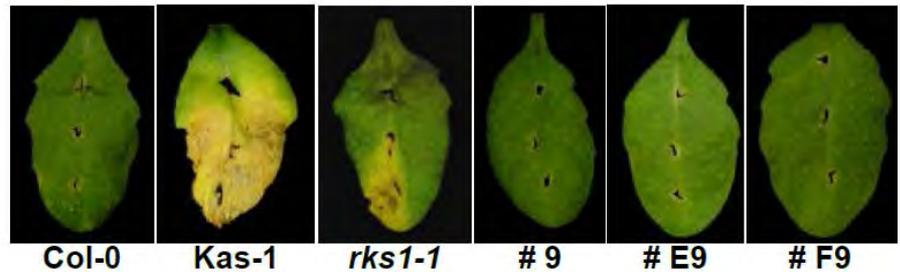
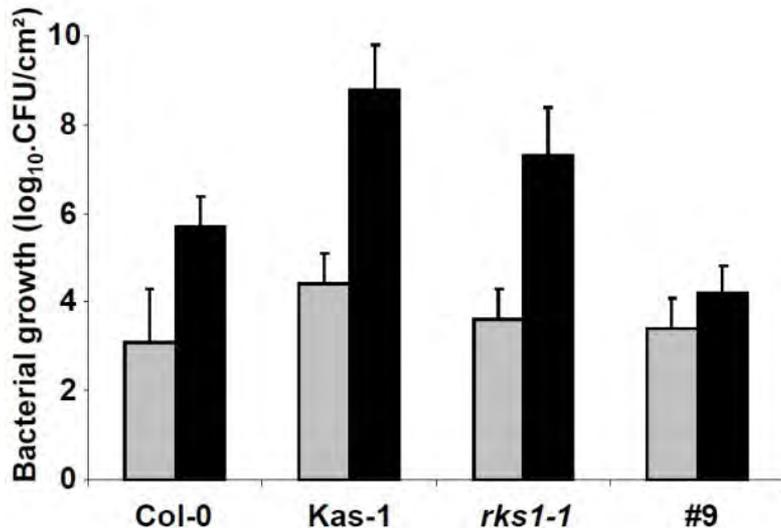
1 susceptible mutant out of 45

Validation of *RKS1* function in QDR



RKS1 transgene  2358 bp

Complementation with a 2.4 kb Col-0 genomic *RKS1* fragment

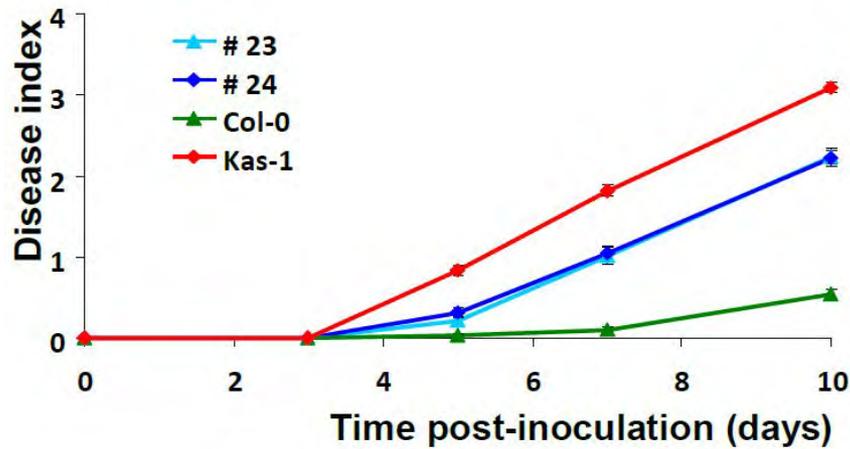


Silencing of *RKS1* but not *At3g57720* renders Col-0 plants susceptible to *Xcc568*

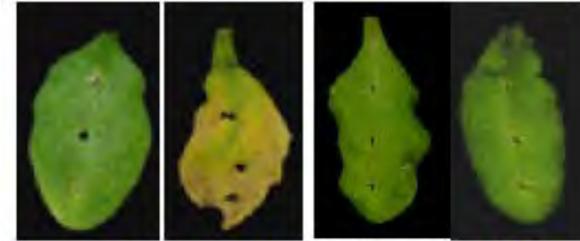
RKS1 amiRNA silencing



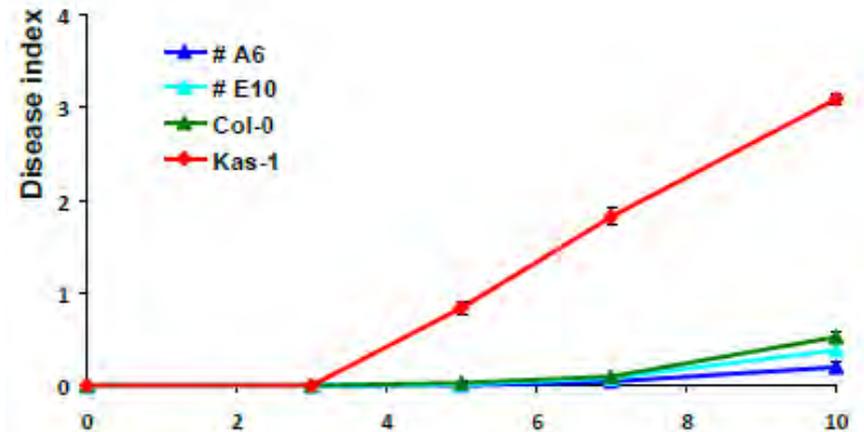
Col-0 Kas-1 # 23 # 24



At3g57720 amiRNA silencing

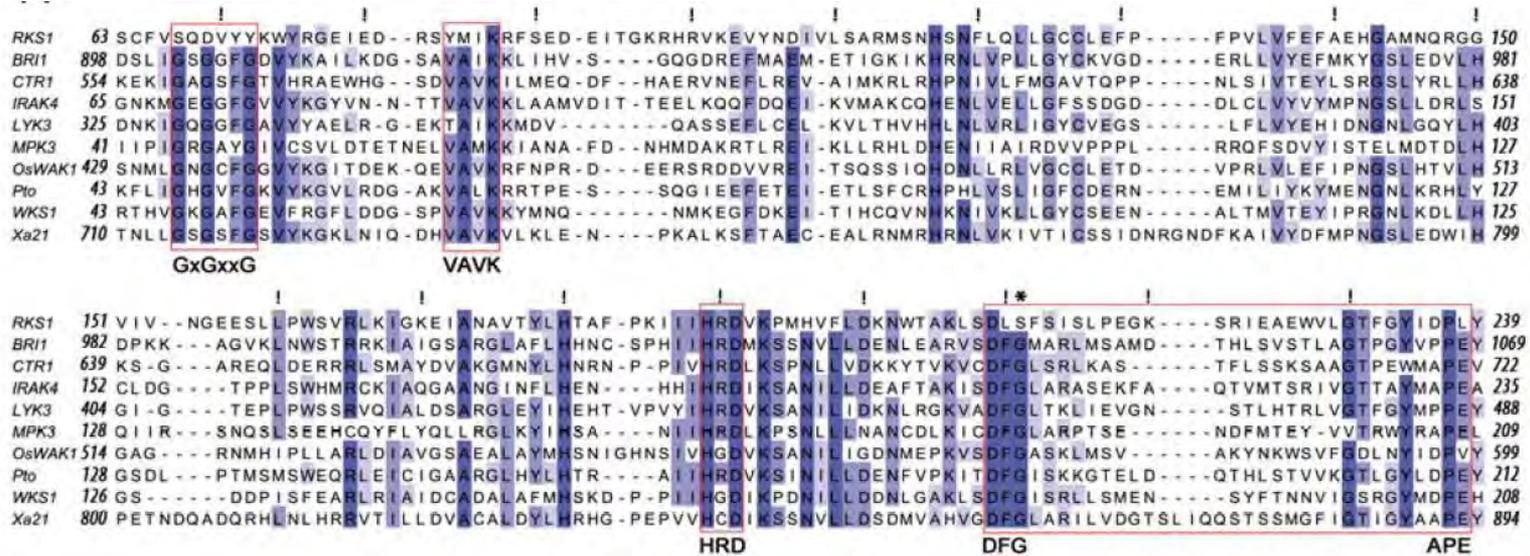


Col-0 Kas-1 #A6 #E10

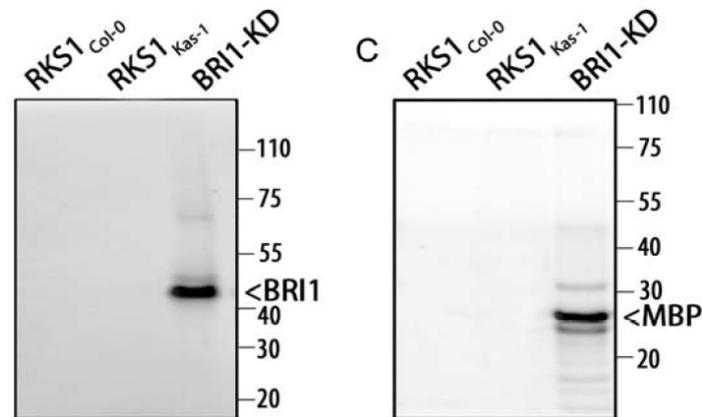


RKS1 encodes an atypical serine-threonine (pseudo?)kinase

The catalytic His-Arg-Asp (HRD) is the only typical kinase feature in RKS1

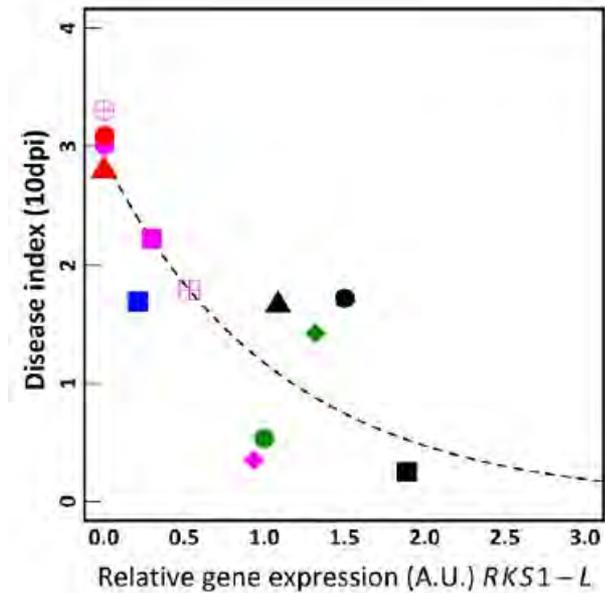
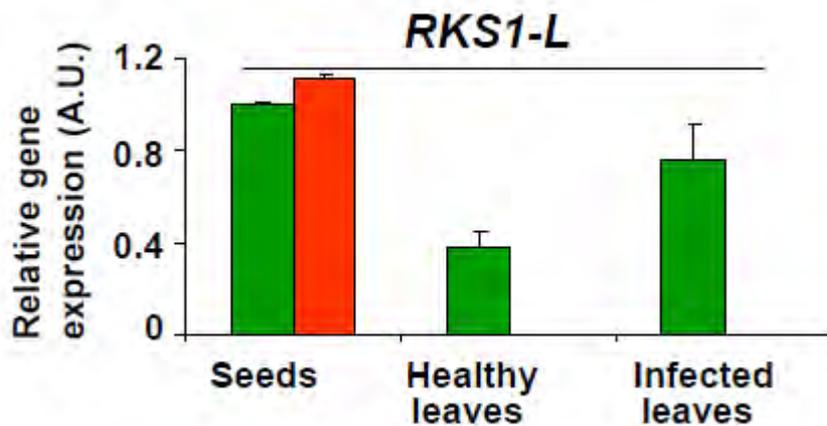
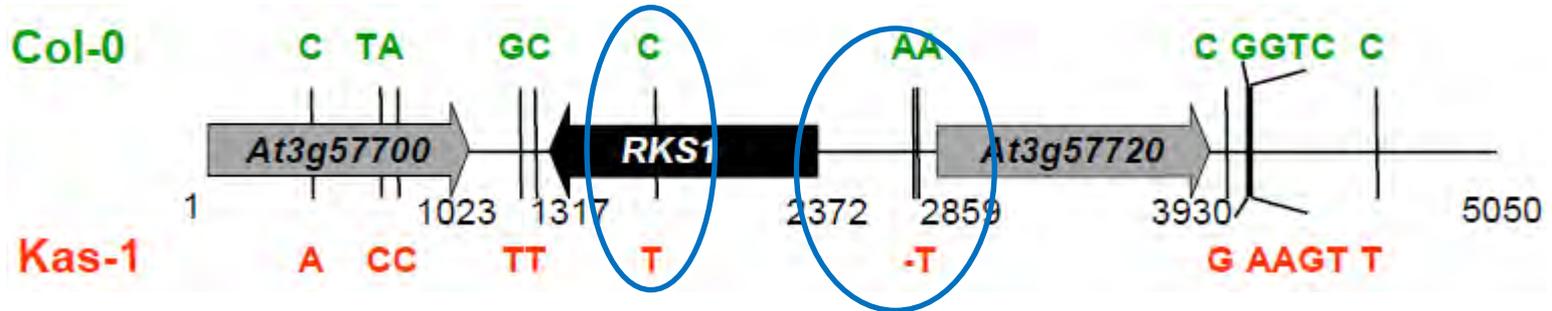


No autophosphorylation / MBP phosphorylation detected



RKS1 expression level correlates with resistance

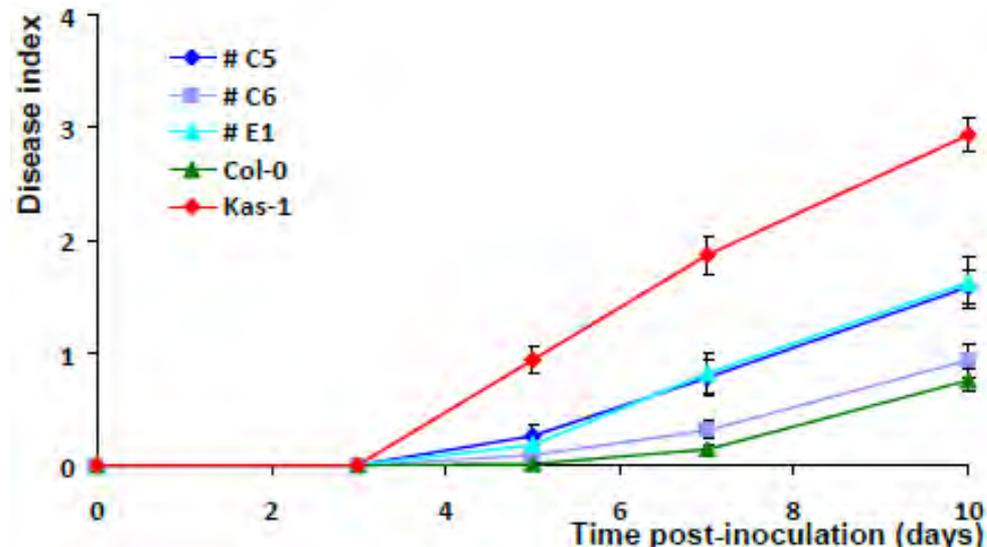
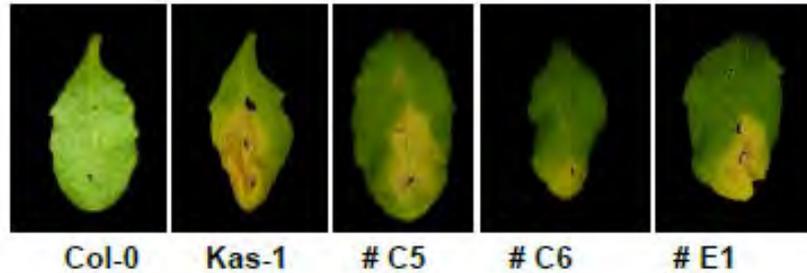
S211F in the kinase activation loop



RKS1 expression polymorphism contributes to QDR

Overexpression of the *RKS1*^{Kas-1} susceptible allele render Col-0 plants susceptible

What about *RKS1* sequence polymorphism ? Enzymatic assay lacking...



Natural variation for Xcc568 QDR at the species level

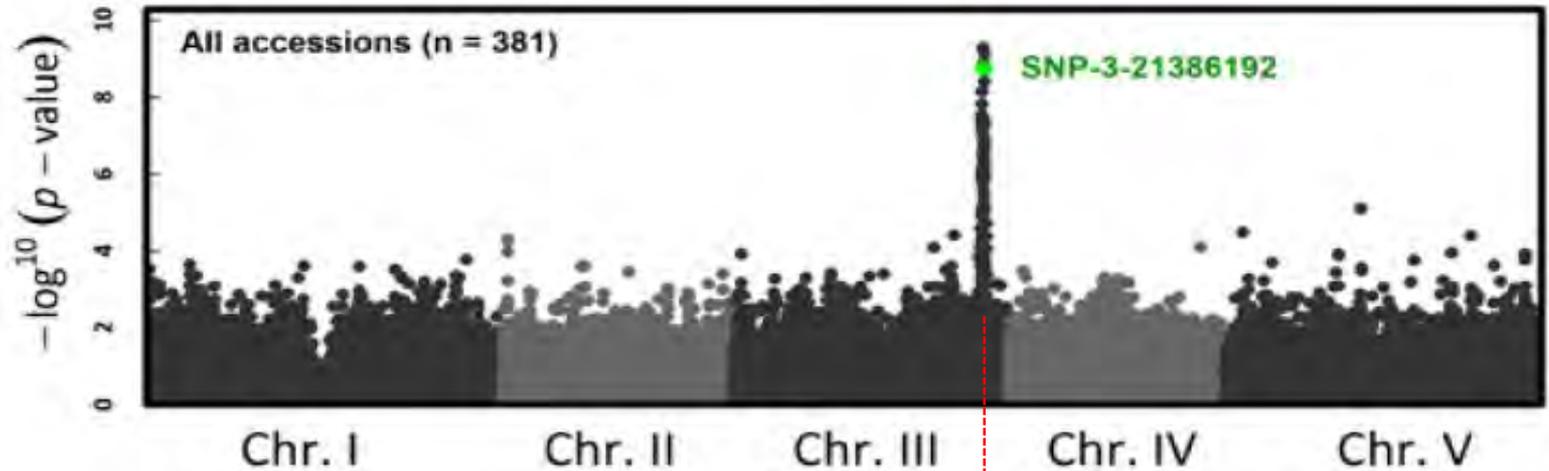
Genome Wide Association mapping



Mapping population:

174 worldwide + 210 French accessions

Genotyped for 214K SNPs

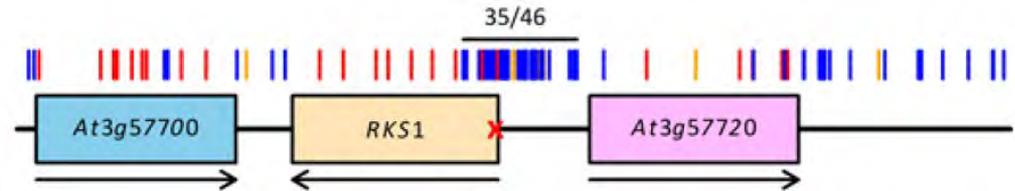


RKS1

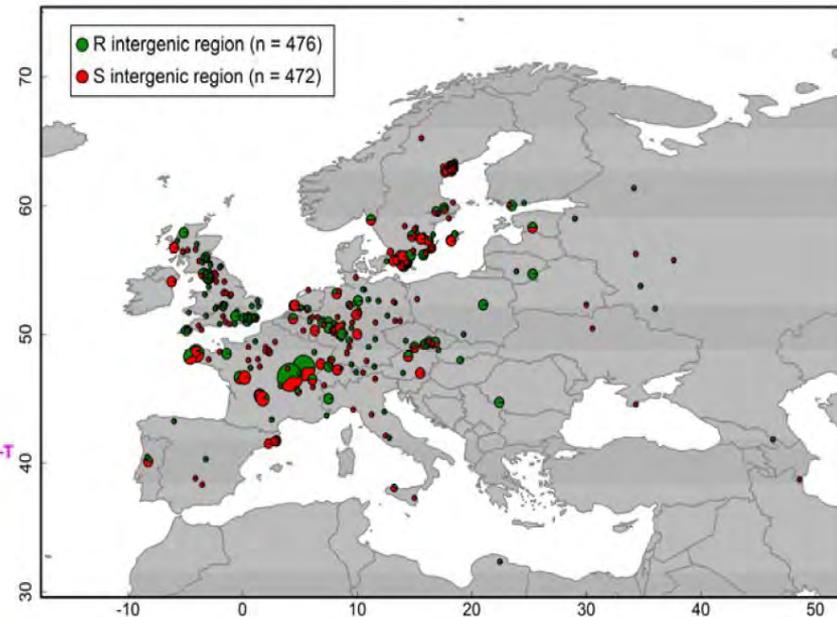
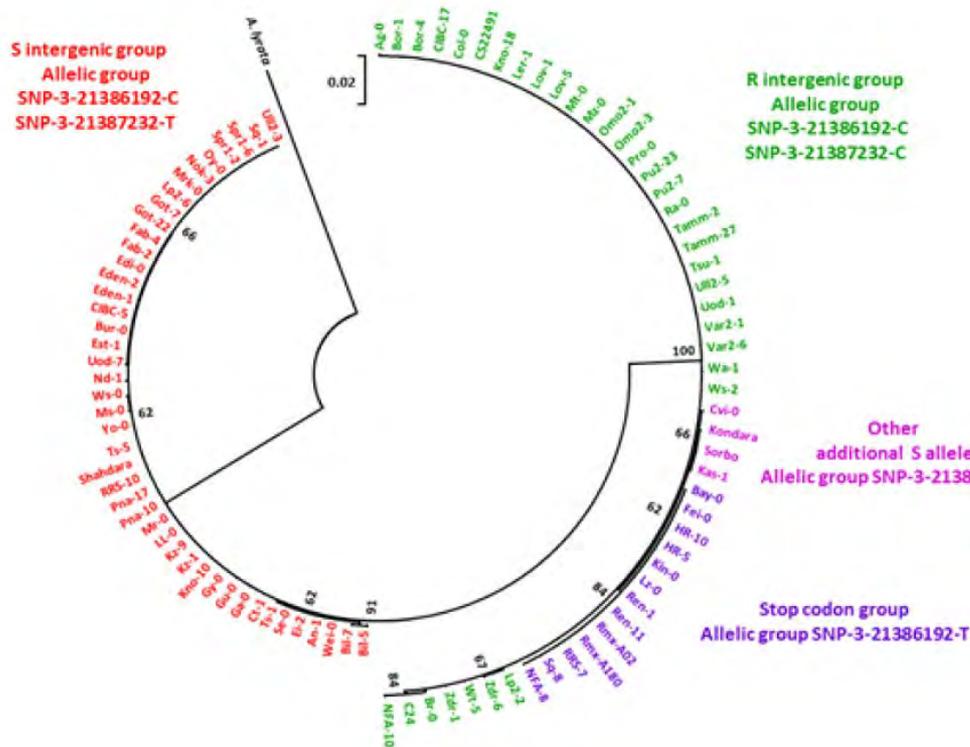
High association at C/T SNP-3-21386192 in 3' of *RKS1*

Ecological and evolutionary relevance of RKS1

Sequencing a 5kb region centered on *RKS1* in 95 accessions



Signature of balancing selection acting on the two highly divergent haplotypes



co-existence of long lived *RKS1* haplotypes in nature

Conclusions

Identification, cloning and functional validation of *RKS1* conferring broad-spectrum resistance to *Xanthomonas campestris* (5/9 races)

RKS1 is an atypical kinase pointing towards novel molecular mechanisms in plant immunity

RKS1 expression correlates with QDR to Xcc

Signatures of balancing selection suggest the co-existence of long lived *RKS1* haplotypes in *A. thaliana* populations.

***RKS1* orthologs are present in the genome of *Brassica* species = opportunity to engineer QDR in crops**



Dominique Roby

Carine Huard-Chauveau

Susana Rivas

Marilyne Debieu

Laure Perchepied

Ilona Kars

Anne Genissel

Marion Perret

Claudine Balagué

Mehdi Kaffif

Sylvain Raffaele

Derry Voisin

Pierre Bouscaille

Vincent Duplan

Lucas Marmiesse

Fabrice Roux

Marilyne Debieu

Nathalie Faure

Cédric Glorieux

Romain Villoutreix

Etienne Bar on

Collaborators

Olivier Loudet, INRA Versailles

Laurent Noel, Toulouse

Joy Bergelson, USA

Thank you for your attention!

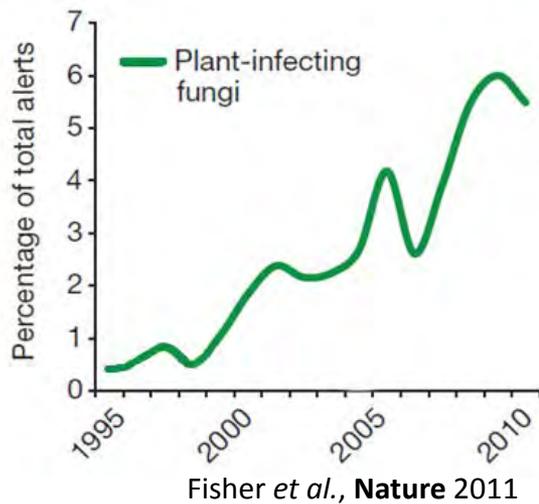
Top of the necrotrophic plant killers: the White Mold fungus

Sclerotinia sclerotiorum

- White Mold on >400 plant species
- Major threat to oil production in EU
- No genetic source of plant resistance
- Resistance to fungicides
- Naturally infects wild Brassica species and the model plant *Arabidopsis thaliana*



Dealing with necrotrophic fungi: Be quantitative or be dead



Biotrophic:
Keep plant cells alive



Necrotrophic:
feed on dead plant cells

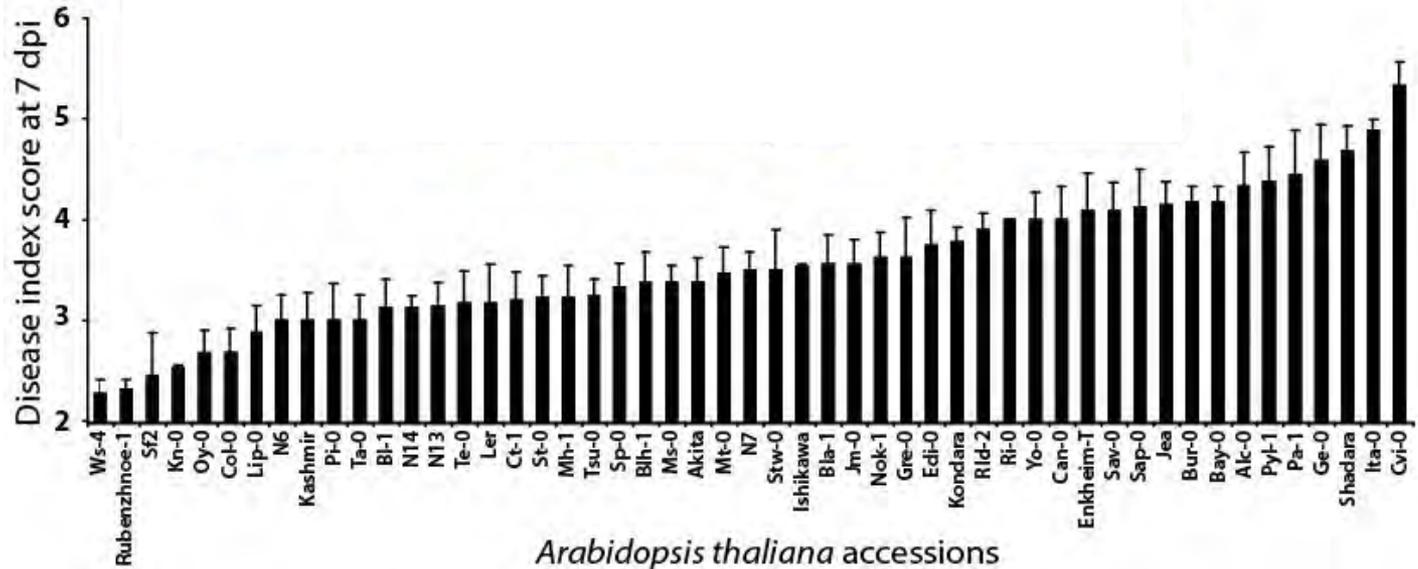
No plant resistance breeding solution
against **necrotrophic** fungi

Massive fungicide use and crop losses

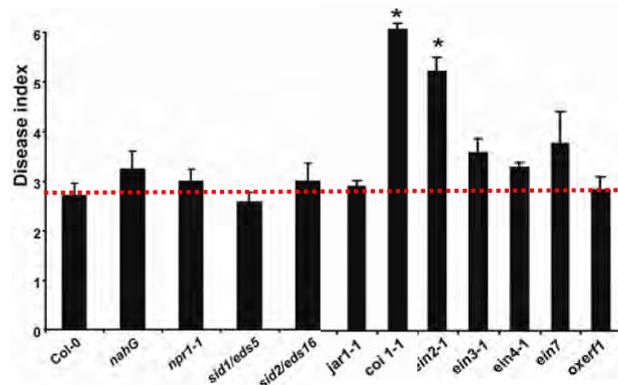


A model plant for the rapid identification of the QDR genes

- *Arabidopsis* natural variation in QDR against the White Mold

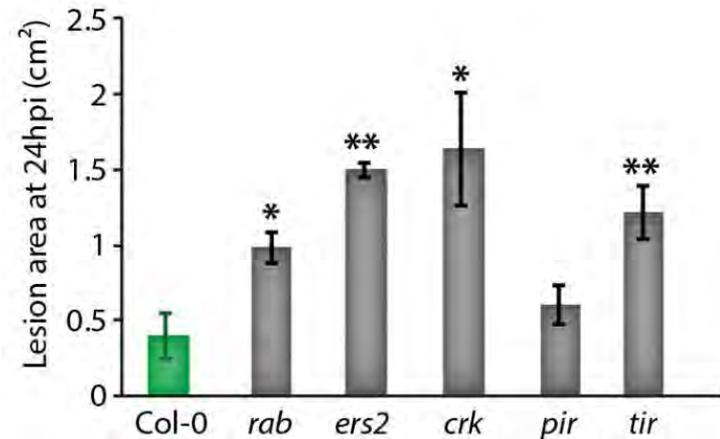
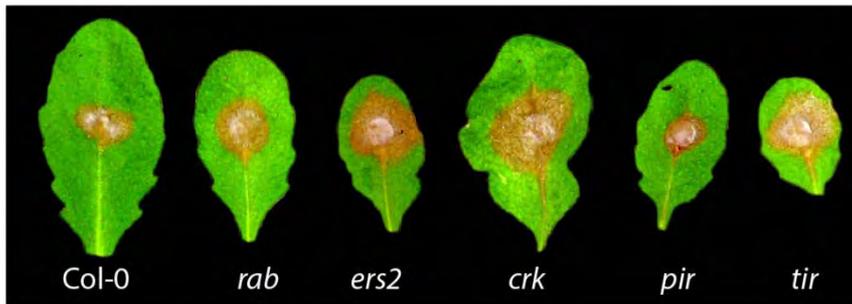


- Independent from several known resistance pathways



Candidate resistance genes revealed by a pilot GWA analysis

Preliminary mutant challenge
Lesion size fully quantitative readout

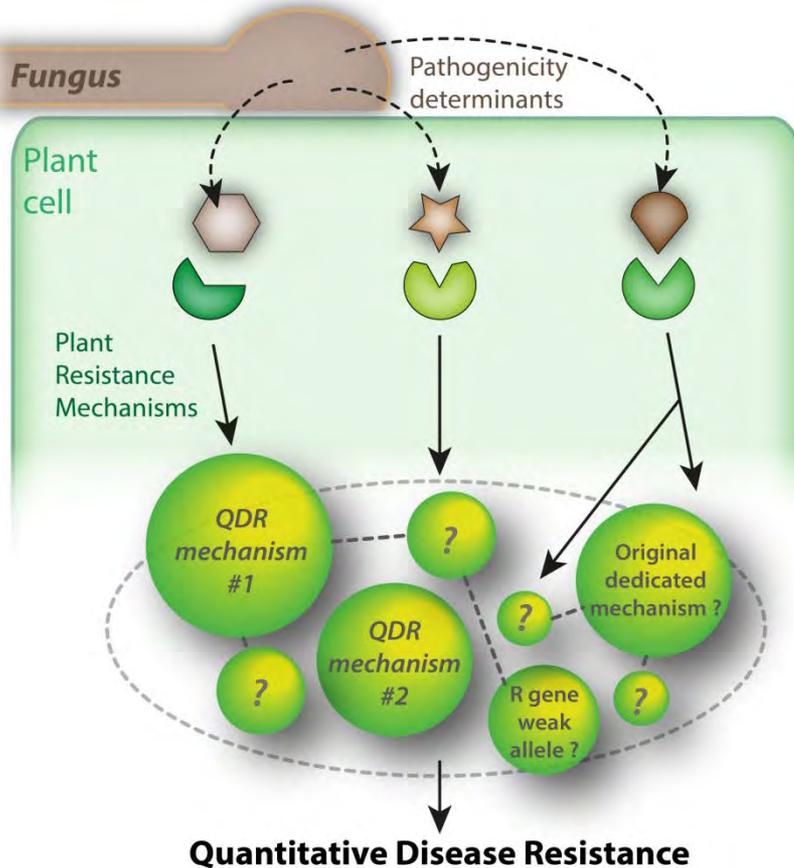


➔ 4 resistance gene candidates (to be confirmed)

Supports the role of ethylene (Percepied *et al.* MPMI 2010), cytoplasmic receptor-like kinases (Zhang *et al.* MPMI conference 2012)

Towards the mechanisms and evolution of resistance at the SNP level

Towards a general model for QDR molecular architecture



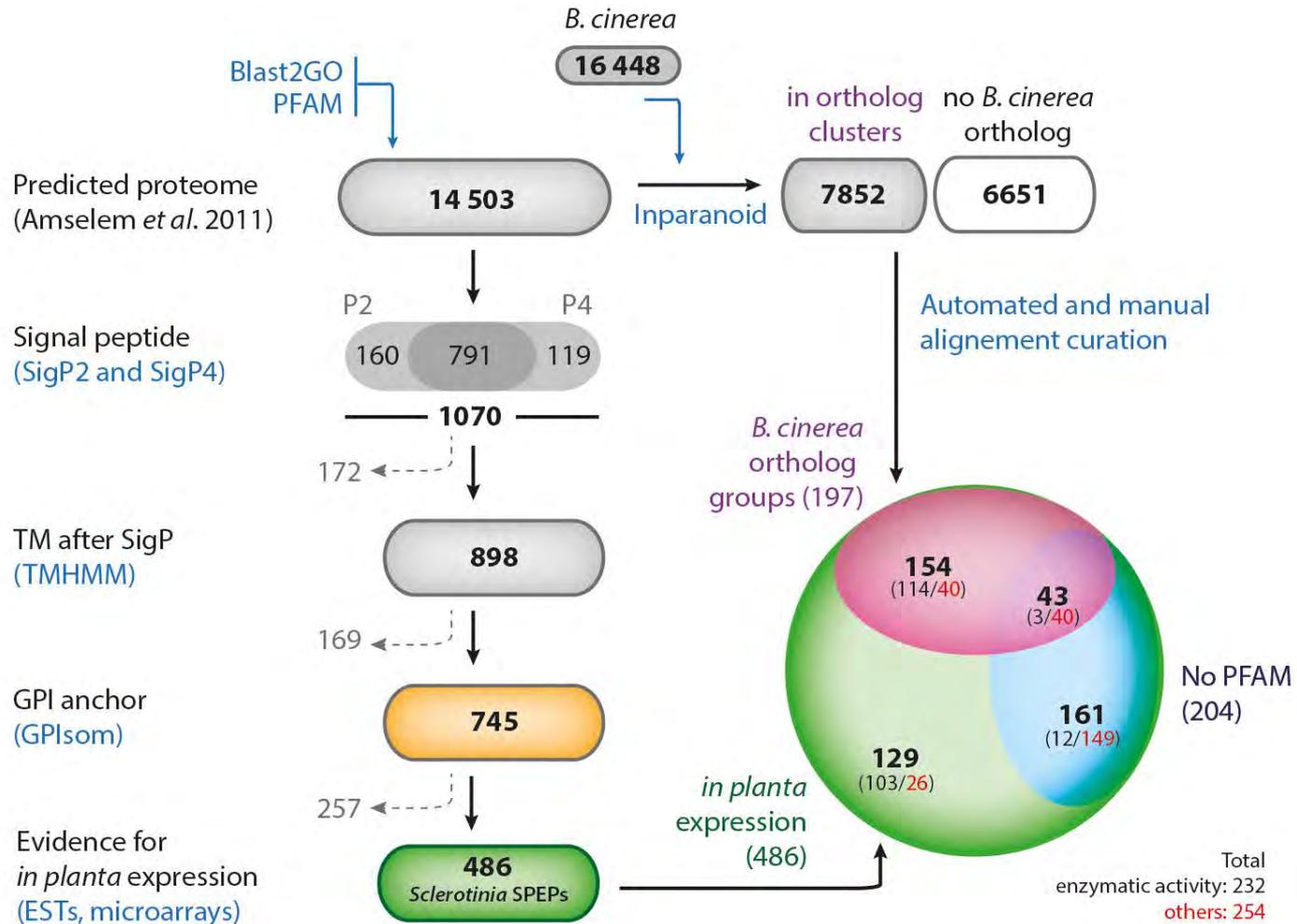
Fungal plant pathogens cause disease with pathogenicity determinants (effectors) that facilitate host colonization

Evolution of pathogenicity determinants > resistance evasion

① Identify plant QDR components using a whole genome approach with no *a priori*

② Identify pathogenicity determinants and use them as probes to dissect further the plant QDR mechanisms

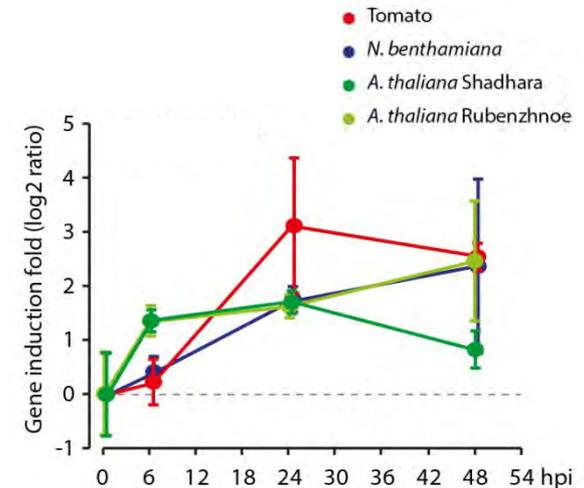
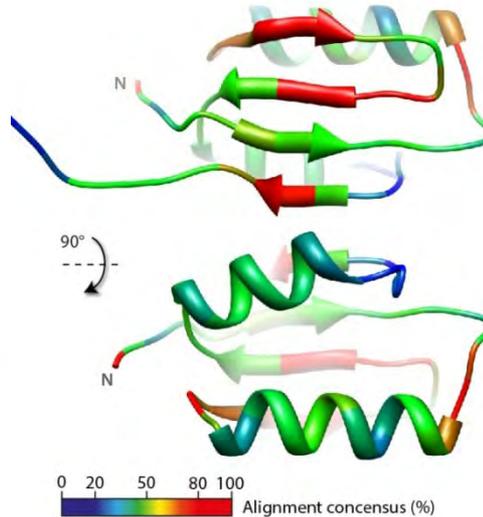
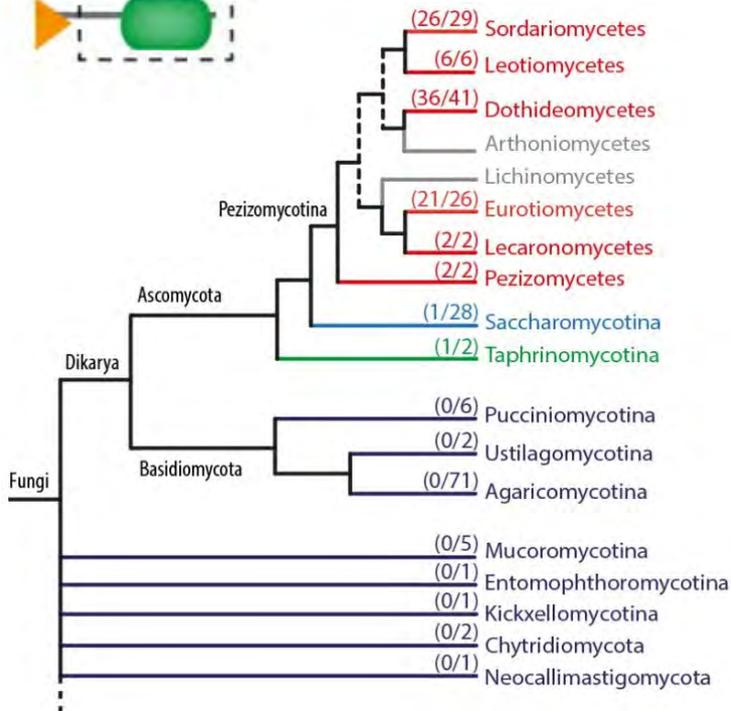
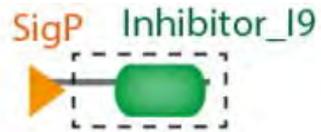
Bioinformatics pipeline for the identification of *S. sclerotiorum* effector candidates



- 486 *Sclerotinia* Secreted Proteins Expressed in Planta - 254 no enzymatic function

S. sclerotiorum effector candidates identified based on conserved domains

- 31 effector candidates identified based on annotation (Chitin-binding, Cystein-rich, toxin, NLS...)



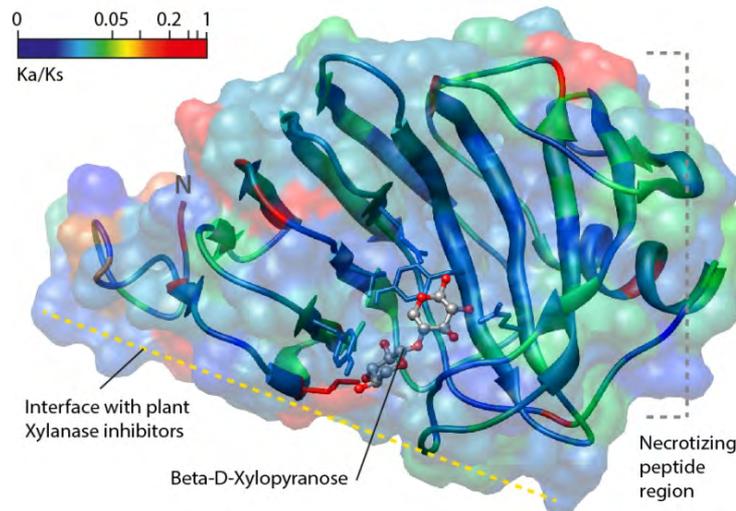
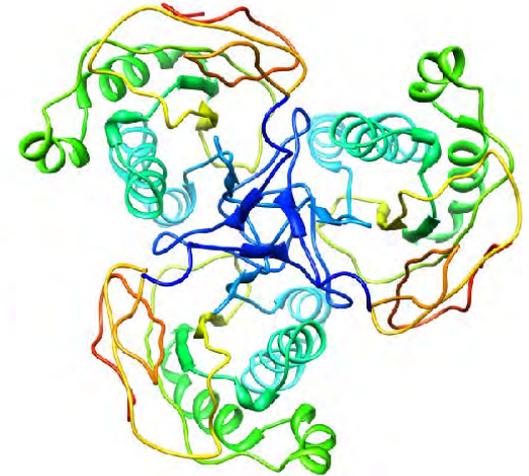
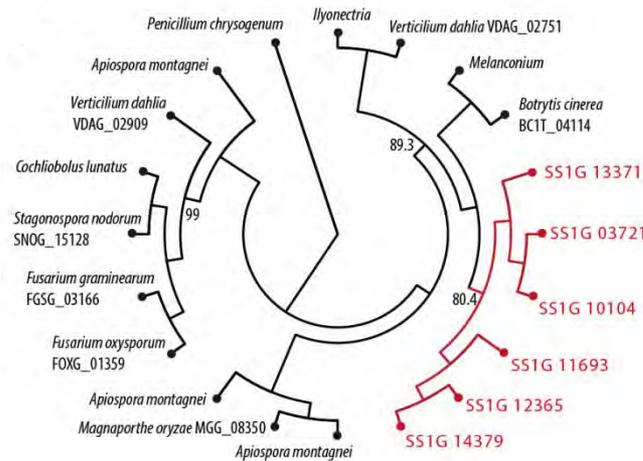
- Family conserved across Ascomycetes
- New class of putative protease inhibitor effectors

S. sclerotiorum effector candidates showing signatures of fast evolution

Comparison between *S. sclerotiorum* and *B. cinerea* genomes:

- 24 gene families expanded since divergence with *B. cinerea*

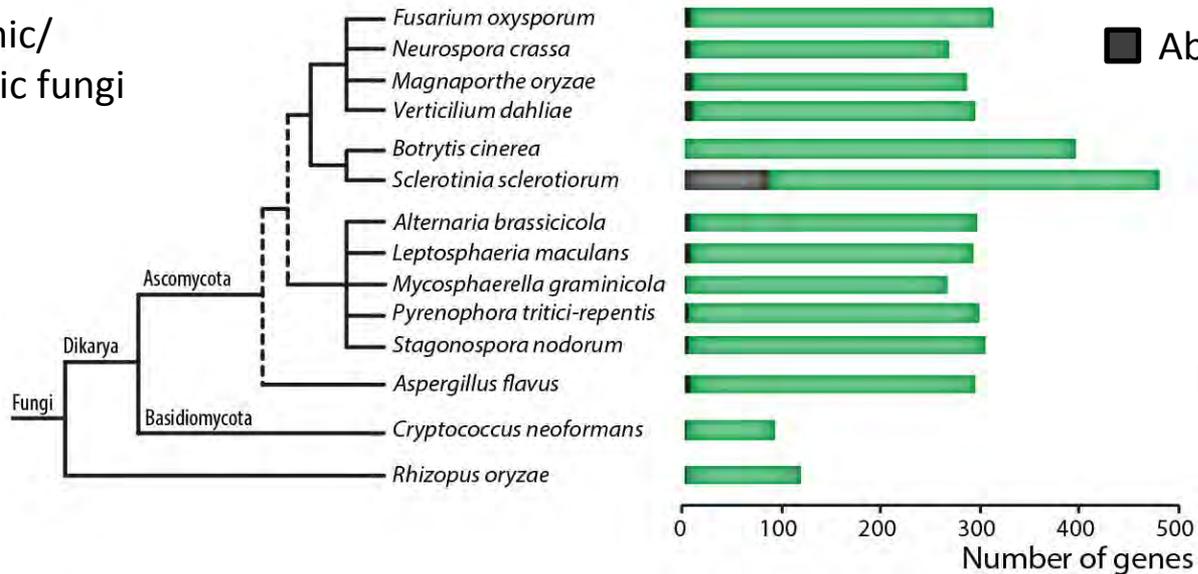
(ex: RidA detoxification protein analogs)



- 5 genes showing $Ka/Ks > 1$
- (ex: GH11 Xylanase)

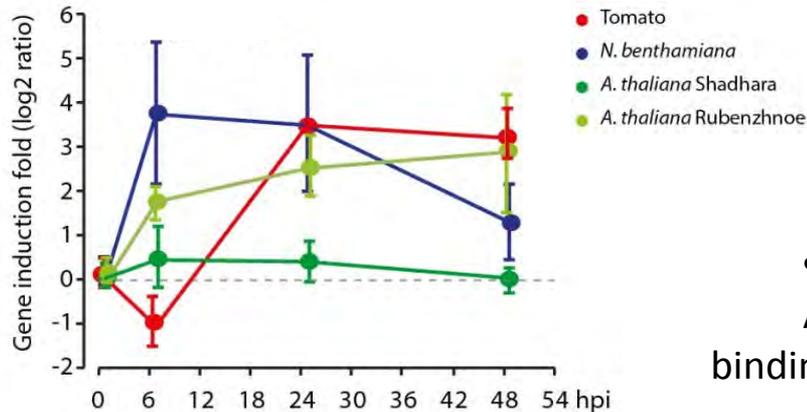
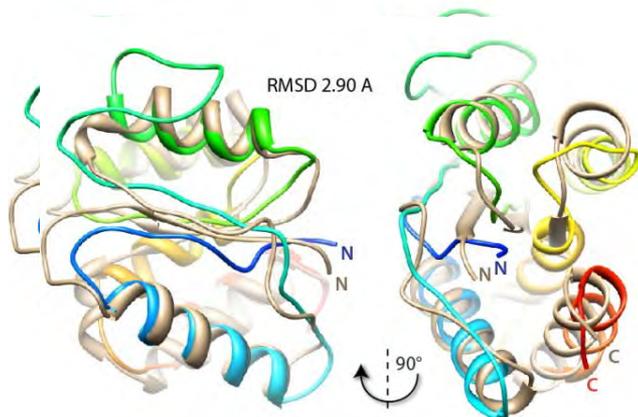
S. sclerotiorum effector candidates showing discontinuous taxonomic distribution

14 necrotrophic/
hemibiotrophic fungi
genomes



- 12 genes with birth and death/HGT patterns

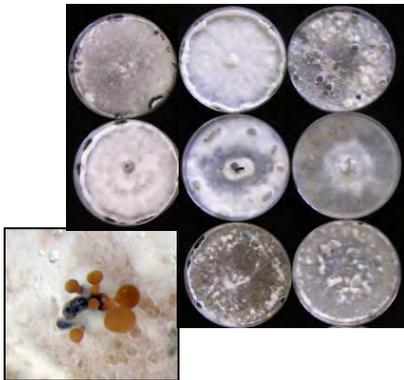
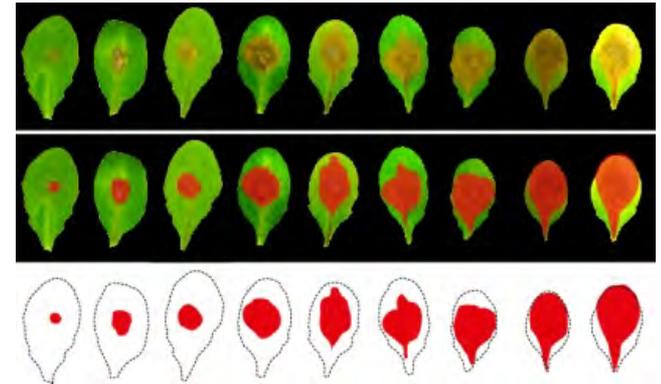
- 6 structural analogs of pathogenicity-related proteins



- Predicted plant Argonaute siRNA binding domain mimic

Conclusions and perspectives

- GWA mapping in *Arabidopsis* populations allows to identify candidate resistance genes against *Sclerotinia*
- Pilot study identified 8 loci – functional analysis in progress



- Structure, evolution and expression analysis pinpointed ~50 ‘effector’ candidates
- Test function of ‘effector’ candidates, document their sequence and expression polymorphism

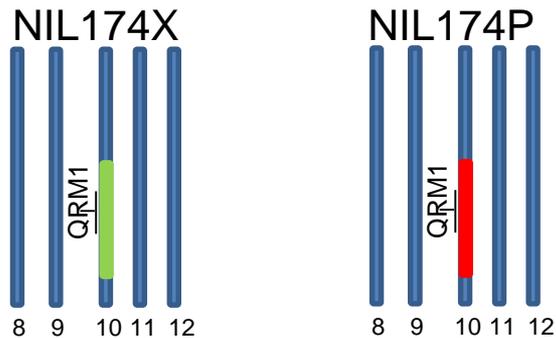
Combine plant and pathogen natural variation analysis for a deep understanding of QDR against necrotrophic fungi

Map-based cloning of the QRM1 QTL controlling resistance to downy mildew

Coll. CNRV

BAP project

- 1. From a RIL population, development of two Near Isogenic Lines differing only in the RPM1 region.**



Resistant to race 710



Susceptible to race 710

- 2. Crossing of the two NILs to obtain a large F2 population segregating for the genomic region of QRM1 only.**

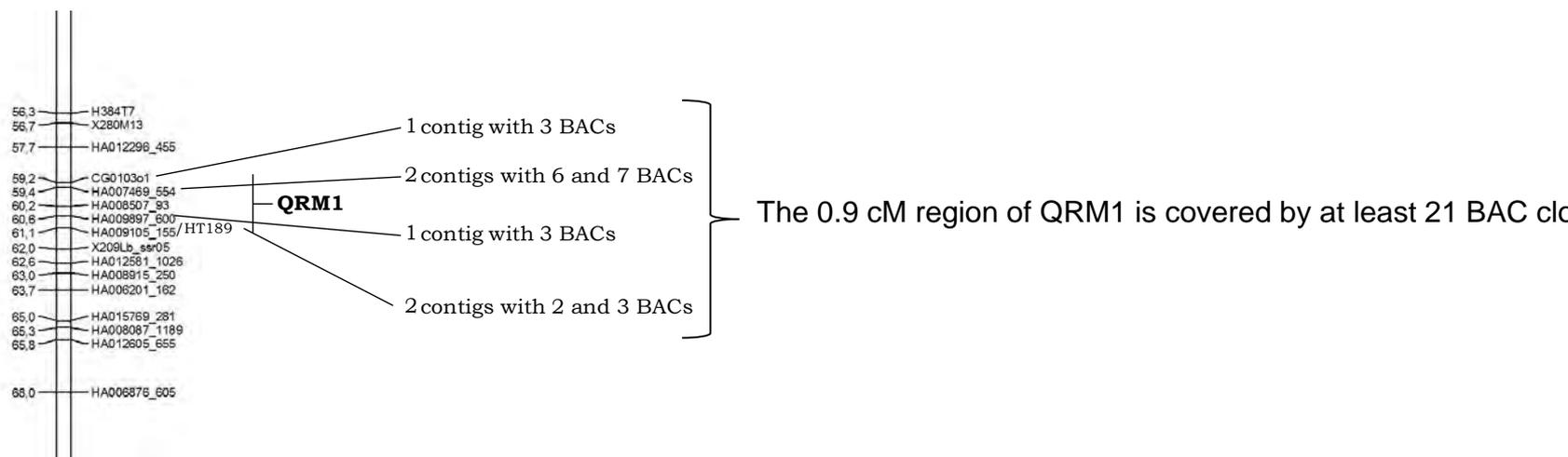
Spring 2013: 7455 plants grown in field.
Genotyping of these plants with two markers surrounding QRM1.
901 recombinant plants identified and self pollinated.



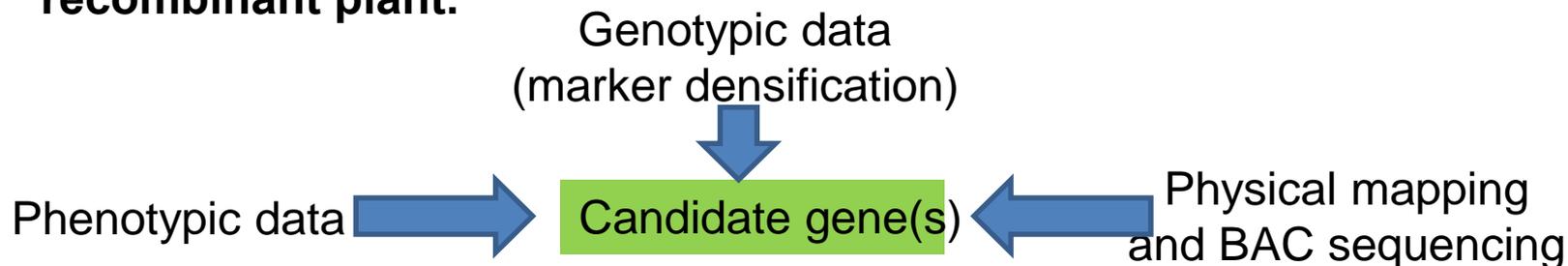
Map-based cloning of the QRM1 QTL controlling resistance to downy mildew

3. Genomic characterization of the region.

in silico physical mapping of BAC clones (Bioinformatic team-S. Carrere).



4. Perspectives for 2014: characterization of the progeny of each recombinant plant.



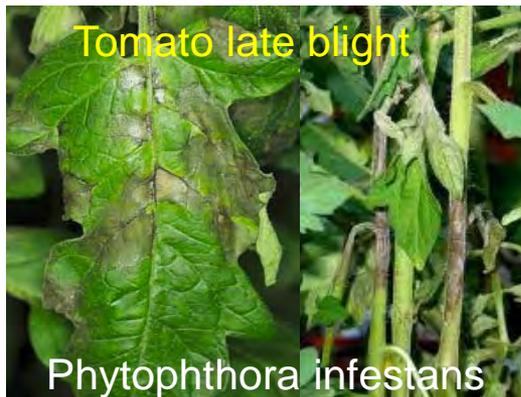
Conserved oomycete effectors and durable disease resistance in cultivated plants

Identification of RXLR and CRN effectors conserved in several races of *P.halstedii* and in other oomycetes (*P.viticola*, *Phytophthora infestans*)

Essential functions? Suitable tools to screen for plant durable resistances

ANR BIOADAPT EFFECTOORES (2014-2017)

Three downy mildews affecting cultivated plants :



1. Identification of conserved effectors through high-throughput sequencing of pathogen isolates
2. Effector variability in pathogen populations, effector expression
3. Transient expression of conserved effector genes in various plant resistance sources :
Identification of putatively durable resistance genes.

ANR project EFFECTOORES : Pere Mestre (INRA Colmar), L.Godiard (LIPM Toulouse), V. Lefebvre (GAFL INRA Avignon), F. Delmotte (UMR SAVE Bordeaux), Génopole de Toulouse, Bioinfo LIPM

*Genetic diversity and mechanisms of resistance to
Aphanomyces euteiches*

Christophe Jacquet



Aphanomyces euteiches, a major pathogen of legumes.



Major factor of pea yield instability in **France** and in **Europe**

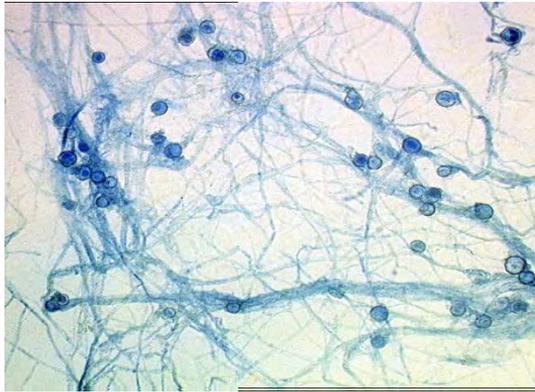


One of the main pathogen of alfalfa in the **USA**

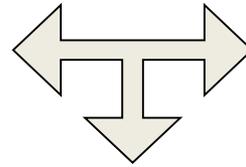
- Damping off seedlings, Root rot, Yellowing, stunting and death
- No efficient chemical control
- Weak levels of resistance in pea, but QTL identified

Broad host spectrum among legumes : Beans, lentils, fababeans, clover...³⁶

Development of a model pathosystem



A. euteiches



Infected roots

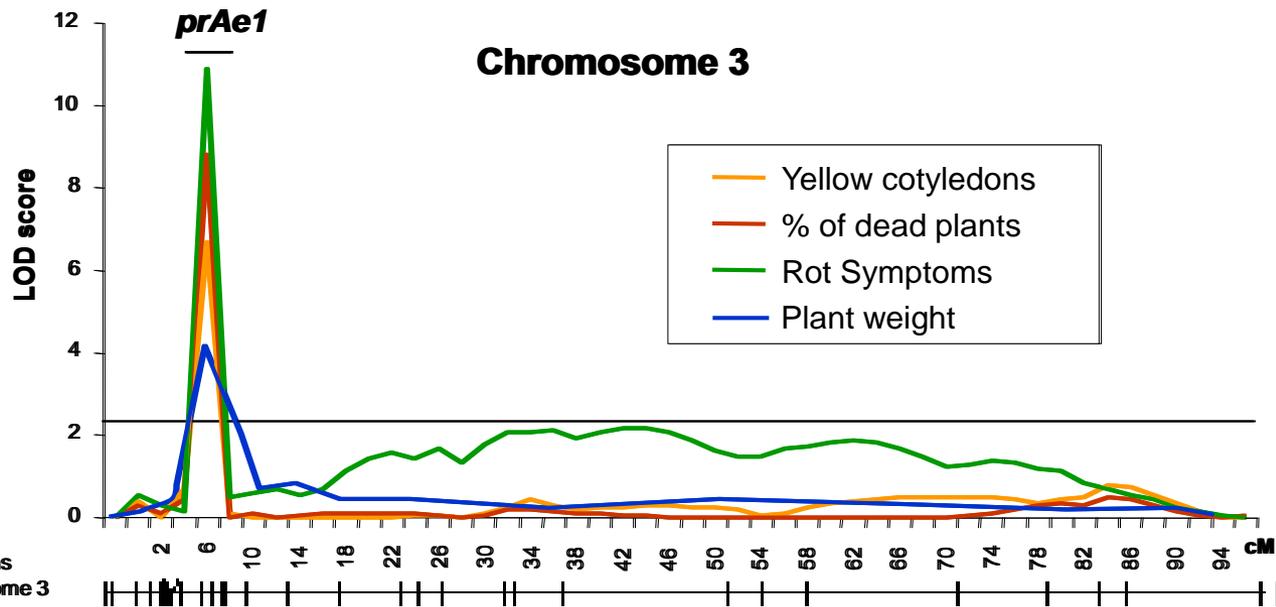


M. truncatula

Developped strategies to identify genes and mechanisms associated with resistance

- 1- Classical forward genetic approaches
 - Development and exploitation of RIL and NIL
- 2- Large scale exploitation of natural variations
 - Genome wide association studies (GWAS)
- 3- A priori reverse genetic approaches on selected mutants
 - Possible connections with symbiosis ?

Genetic analyses in RIL populations : Identification of one major locus, *prAe1-AER1*



Resistance associated with *prAe1* is recessive (Djebali et al., 2009, MPMI,)

prAe1 colocalized with *AER1*, an additional QTL of resistance to *Ae*, detected with another RIL population (Pilet-Nayel et al, 2009, Phytopath,)

AER1/prAe1 is a broad spectrum QTL (involved in resistance to 3 *Ae* pea isolates and at least one alfalfa *Ae* strain). (Hamon et al., 2010, TAG)

Exploitation of natural variations in a *M. truncatula* collection

Medicago truncatula (Collaboration N. Young - Univ. of Minnesota)

HAPMAP PROJECT

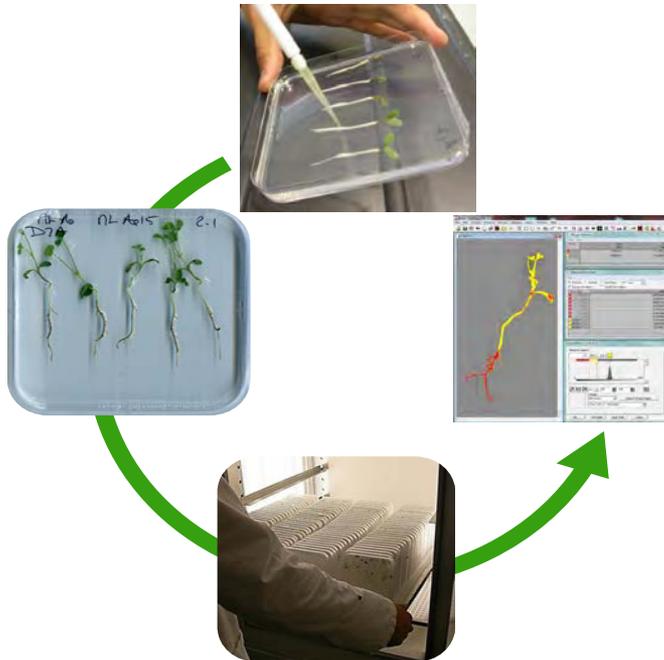
Home Hapmap Tools Downloads Resources Contact



> 300 lines sequenced using NGS technologies

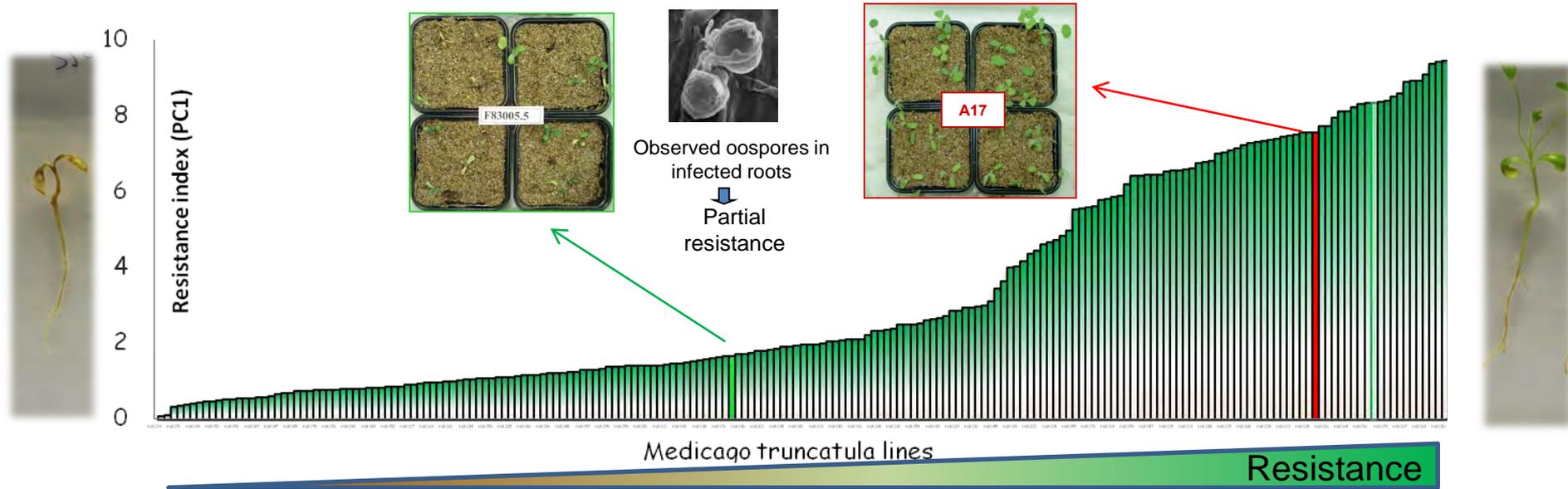


Identification of 5 millions of SNP



- Phenotyping of 179 lines
- > 89 000 phenotyping data from *in vitro* & use of image analysis softwares (Toulouse) and greenhouse (INRA Rennes) inoculation experiments

Natural variability of *M. truncatula*



- Most accessions are susceptible
- A few accessions were very resistant, with almost no symptom
- Strong correlation between in vitro and greenhouse data ($r^2 = 0.82$)

Association mapping results

- *Calcul of P-values* for each SNP using a mixed linear statistical model.
- Small P-values \Leftrightarrow high degree of association between the resistance and SNP.

Thanks to ...

UMR 5546, CNRS-UPS Toulouse

Olivier André (PhD)

Yacine Badis (PhD)

Thomas Rey (Post-Doc)

Maxime Bonhomme

Arnaud Bottin

Elodie Gaulin

Bernard Dumas

Christophe Jacquet

UMR APBV INRA, Rennes

Marie-Laure Pilet-Nayel

Alain Baranger

INRA DIAPC Montpellier

Joelle Ronfort

Nathalie Chantret

Jean-Marie Prosperi

INRA LIPM Toulouse

Clare Gough

Jean-Jacques Bono

University of Minnesota

Nevin Young

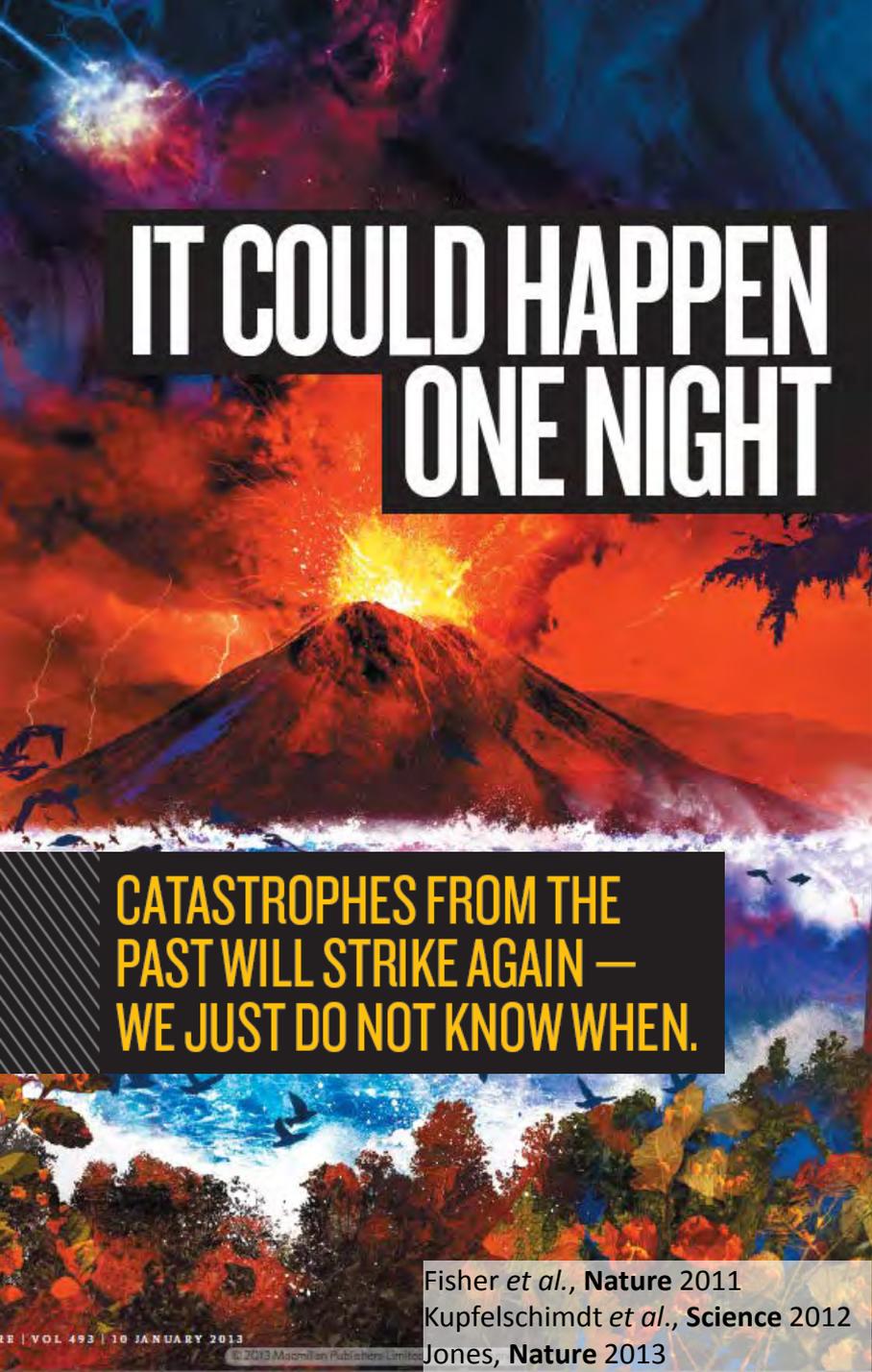
The Immunit-*Ae* project (2011-2014)

Sympasignal (2010-2013)

Catastrophe #2: Death by fungus

‘fungi are the planet’s biggest killers’

Towards novel and diverse genetic sources of
disease resistance for durable crop protection

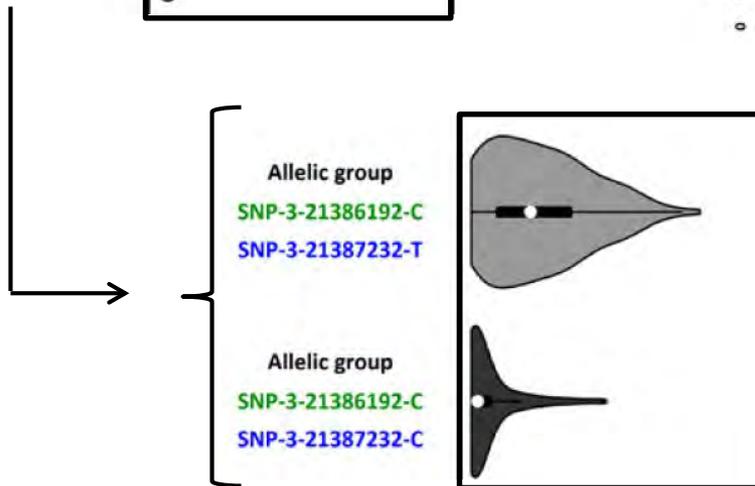
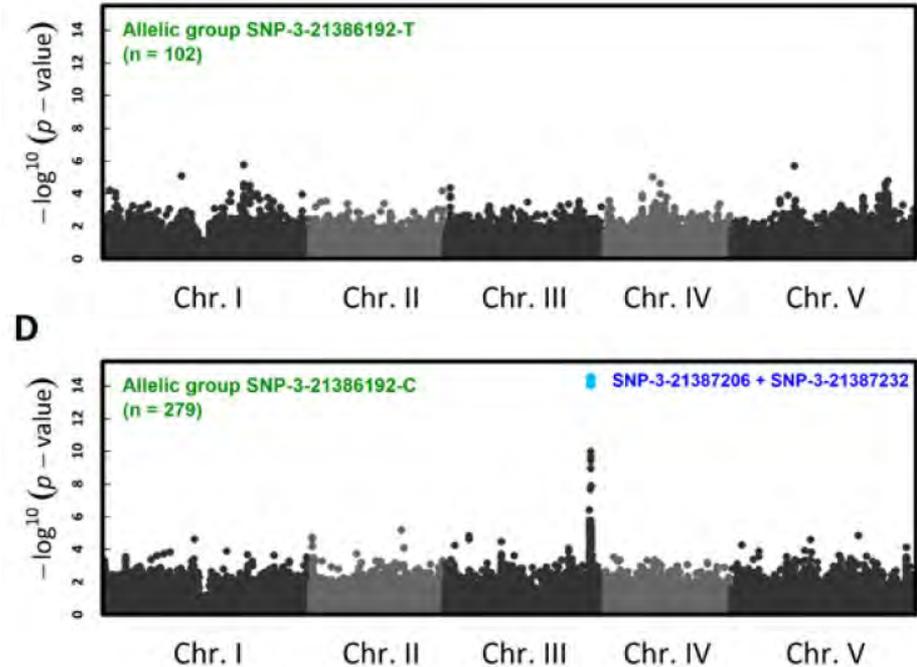
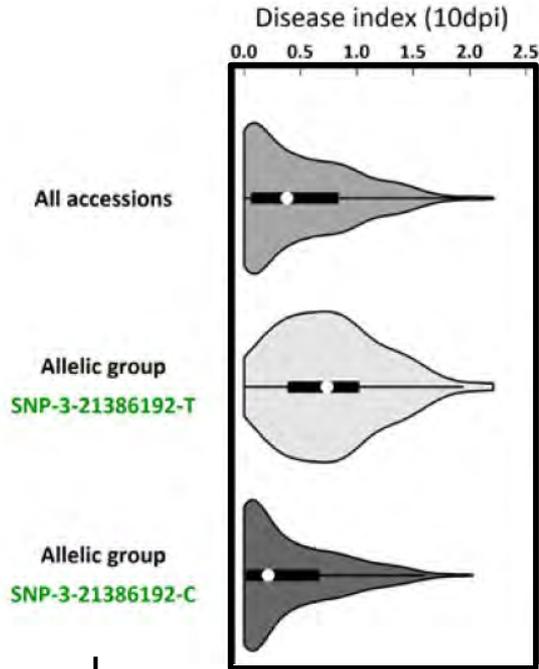


IT COULD HAPPEN
ONE NIGHT

CATASTROPHES FROM THE
PAST WILL STRIKE AGAIN —
WE JUST DO NOT KNOW WHEN.

Fisher *et al.*, **Nature** 2011
Kupfelschmidt *et al.*, **Science** 2012
Jones, **Nature** 2013

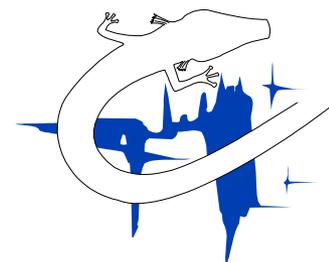
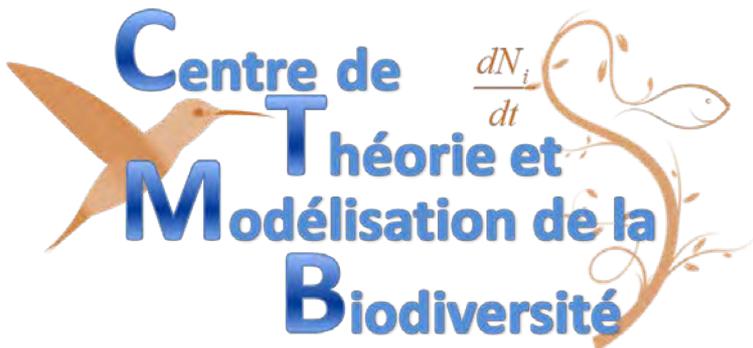
Nested GWA mapping reveals 3 allelic groups at *RKS1* locus

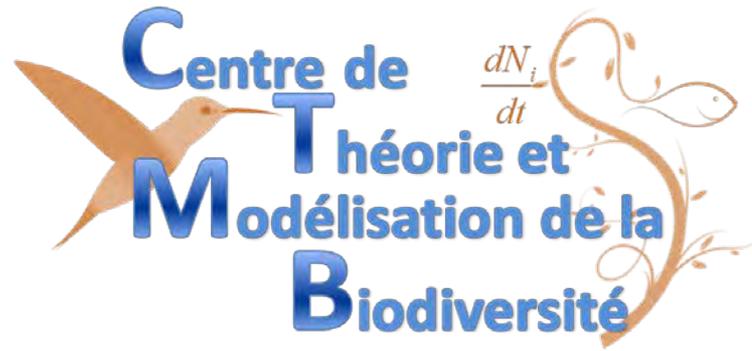


Apports potentiels d'une perspective écologique: Biodiversité & fonctionnement des écosystèmes

Claire de Mazancourt

Centre de Théorie et Modélisation de la
Biodiversité,
Station d'Ecologie Expérimentale
du CNRS à Moulis





Objectifs :

- Favoriser le développement de théories unifiées et de modèles prédictifs des changements de biodiversité et de leurs causes et conséquences écologiques, évolutives et sociales

Equipe de recherche :

- 4 chercheurs,
1 ingénieur



Michel Loreau



Hervé Philippe



Claire de Mazancourt



Bart Haegeman



Béatrice Roure

- 4 postdocs



Tomas Revilla



Jarad Mellard



Romain Bertrand



Shaopeng Wang

- 2 étudiantes
en thèse



Anne-Sophie Auguères



Anne-Sophie
Lafuite

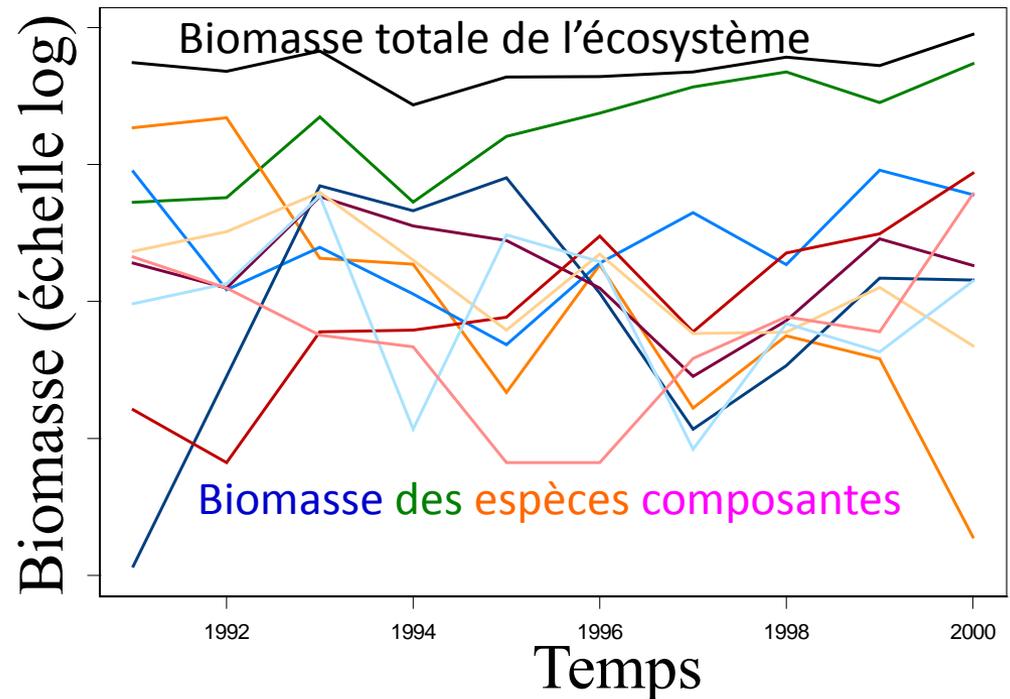
Biodiversité et fonctionnement des écosystèmes

- La biodiversité augmente la production et sa stabilité (i.e. prévisibilité)
 - Résultats empiriques de la littérature
 - Modèle théorique,
 - Applicable à des données expérimentales
 - Mécanismes
 - Prédiction
 - Perspectives

Stabilité

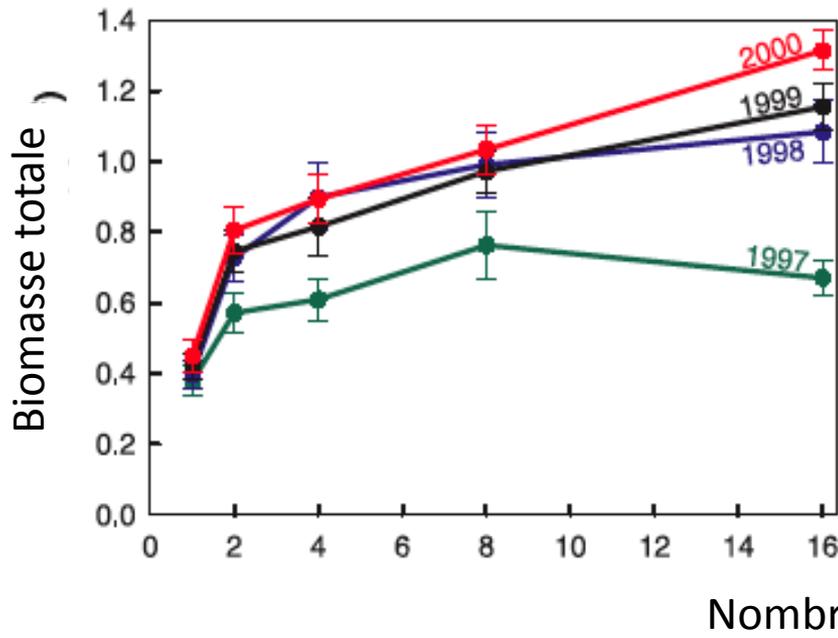
Biodiversité : assurance contre la provision incertaine des services des écosystèmes (production de biomasse, contrôle des pestes et maladies, fixation d'azote, etc.)

- **Stabilité temporelle:** inverse de la **variabilité temporelle** mesurée par le Coefficient de Variation de biomasse totale
- $CV = \text{déviation standard} / \text{moyenne}$

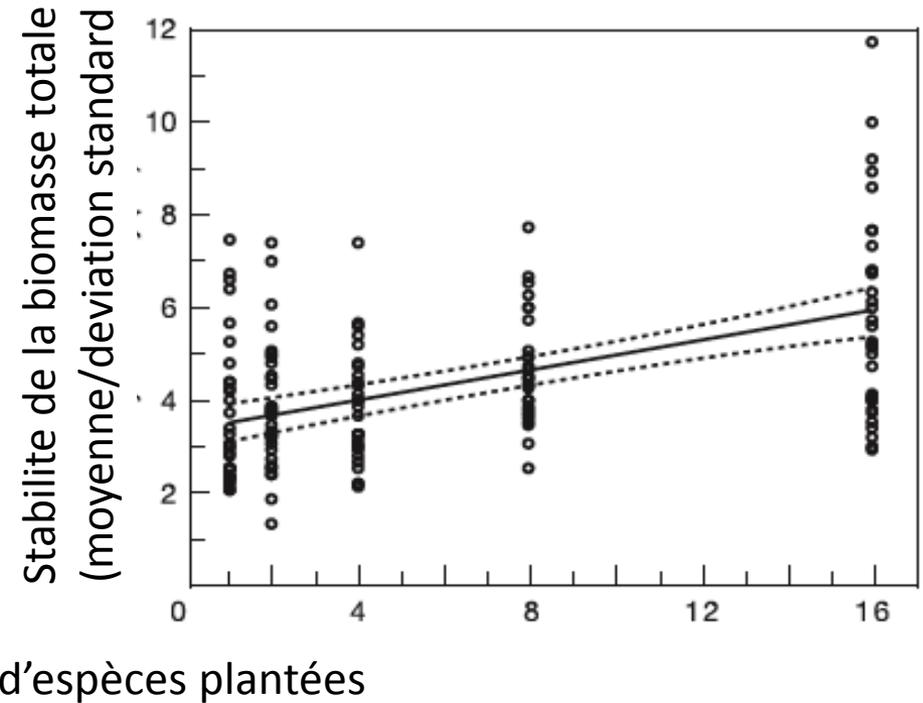




La diversité des plantes augmente & stabilise la production



Tilman et al., *Science* 294: 843–845 (2001)



Tilman et al., *Nature* 441: 629–632 (2006)

Biodiversity loss and its impact on humanity

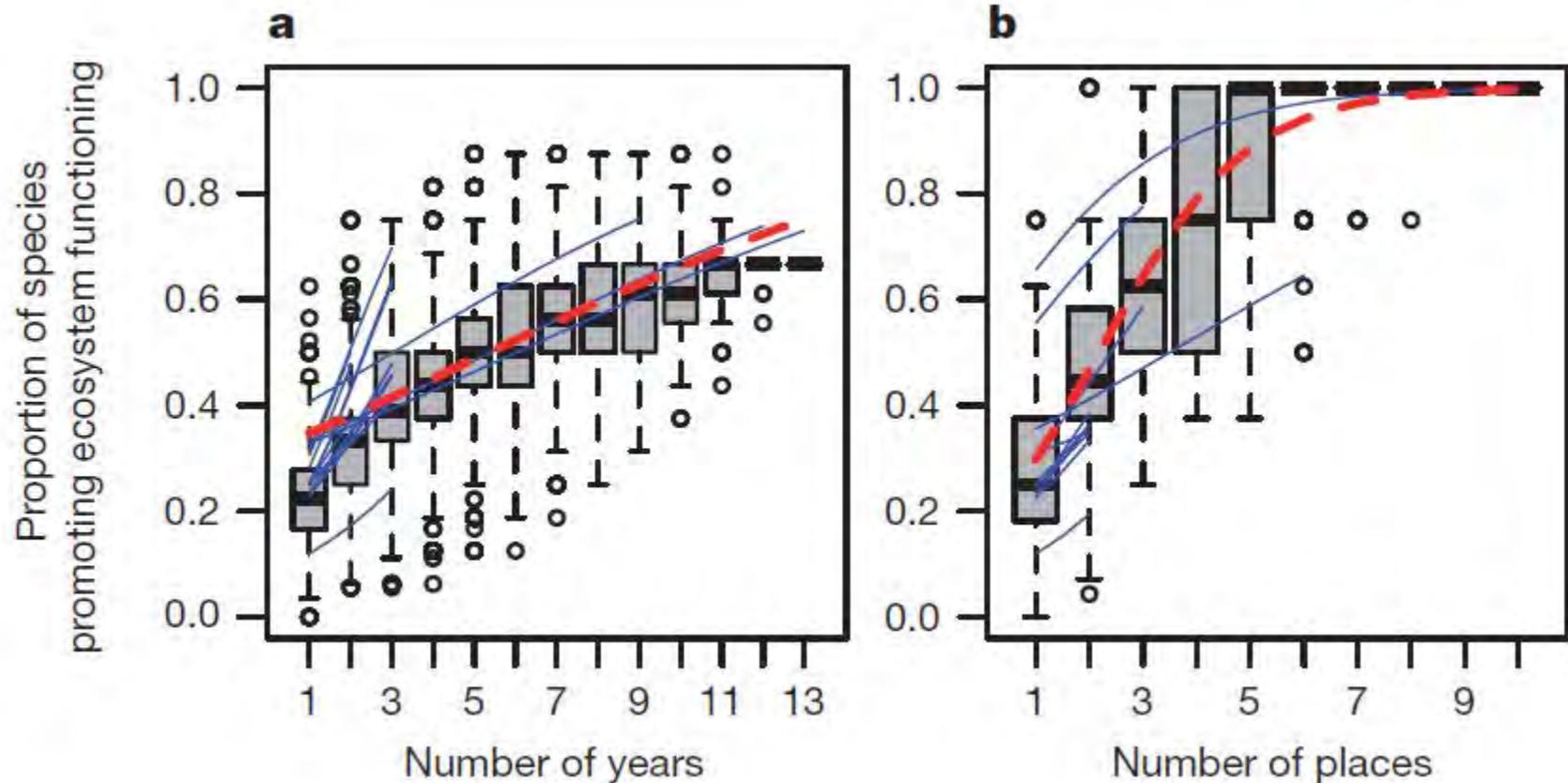
Bradley J. Cardinale¹, J. Emmett Duffy², Andrew Gonzalez³, David U. Hooper⁴, Charles Perrings⁵, Patrick Venail¹, Anita Narwani¹, Georgina M. Mace⁶, David Tilman⁷, David A. Wardle⁸, Ann P. Kinzig⁵, Gretchen C. Daily⁹, Michel Loreau¹⁰, James B. Grace¹¹, Anne Larigauderie¹², Diane S. Srivastava¹³ & Shahid Naeem¹⁴

Table 1 | Balance of evidence linking biodiversity to ecosystem services

Category of service	Measure of service provision	SPU	Diversity level	Source	Study type	N	Relationship	
							Predicted	Actual
Provisioning								
Crops	Crop yield	Plants	Genetic	DS	Exp	575		
			Species	DS	Exp	100		
Fisheries	Stability of fisheries yield	Fish	Species	PS	Obs	8		
Wood	Wood production	Plants	Species	DS	Exp	53		
Fodder	Fodder yield	Plants	Species	DS	Exp	271		
Regulating								
Biocontrol	Abundance of herbivorous pests (bottom-up effect of plant diversity)	Plants	Species	DS*	Obs	40		
			Species	DS†	Exp	100		
			Species	DS‡	Exp	287		
			Species	DS§	Exp	100		
Abundance of herbivorous pests (top-down effect of natural enemy diversity)	Natural enemies	Species/trait	DS*	Obs	18			
		Species	DS†	Exp/Obs	266			
		Species	DS‡	Exp	38			
Resistance to plant invasion	Plants	Species	DS	Exp	120			
Disease prevalence (on plants)	Plants	Species	DS	Exp	107			
Disease prevalence (on animals)	Multiple	Species	DS	Exp/Obs	45			

High plant diversity is needed to maintain ecosystem services

Forest Isbell¹, Vincent Calcagno¹, Andy Hector², John Connolly³, W. Stanley Harpole⁴, Peter B. Reich^{5,6}, Michael Scherer-Lorenzen⁷, Bernhard Schmid², David Tilman⁸, Jasper van Ruijven⁹, Alexandra Weigelt¹⁰, Brian J. Wilsey⁴, Erika S. Zavaleta¹¹ & Michel Loreau¹



Modèle stochastique de dynamique des populations

Taux de croissance de la population de l'espèce i au temps t :

$$\tilde{r}_i(t) = \ln \frac{\tilde{N}_i(t+1)}{\tilde{N}_i(t)} = r_{mi} \left[1 - \frac{\tilde{N}_i(t) + \sum_{j \neq i} \alpha_{ij} \tilde{N}_j(t)}{K_i} \right] + \sigma_{ei} u_{ei}(t) + \frac{\sigma_{di} u_{di}(t)}{\sqrt{\tilde{N}_i(t)}}$$

Densité
dépendance **Stochast**icité
environnementale **Stochast**icité
démographique

Biomasse observée :

$$\ln(N_i(t)) = \ln(\tilde{N}_i(t)) + \sigma_{oi} \overline{u_{oi}(t)}$$

Erreur d'observation

Prédiction – paramétrable avec des données de monoculture + abondances des espèces en polyculture

$$CV_{NT}^2 \approx \underbrace{\varphi_e \sum_e^2}_{\text{Environnementale}} + \underbrace{\frac{\sum_d^2}{N_T}}_{\text{Démographique}} + \underbrace{\lambda \frac{\sum_o^2}{n_x}}_{\text{Observation}}$$

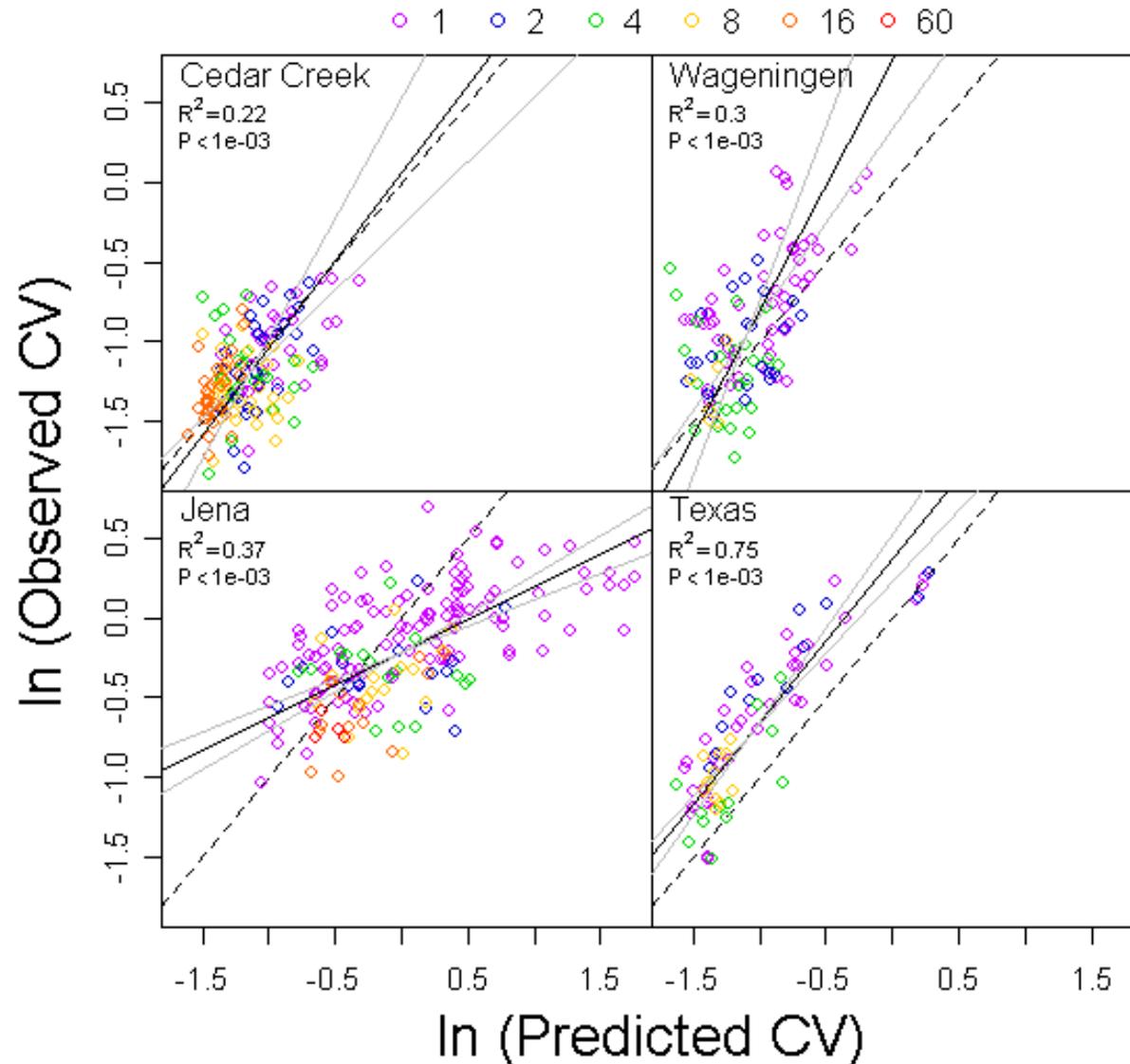
Réponses environnementales différentes entre espèces

Biomasse totale de la communauté augmente

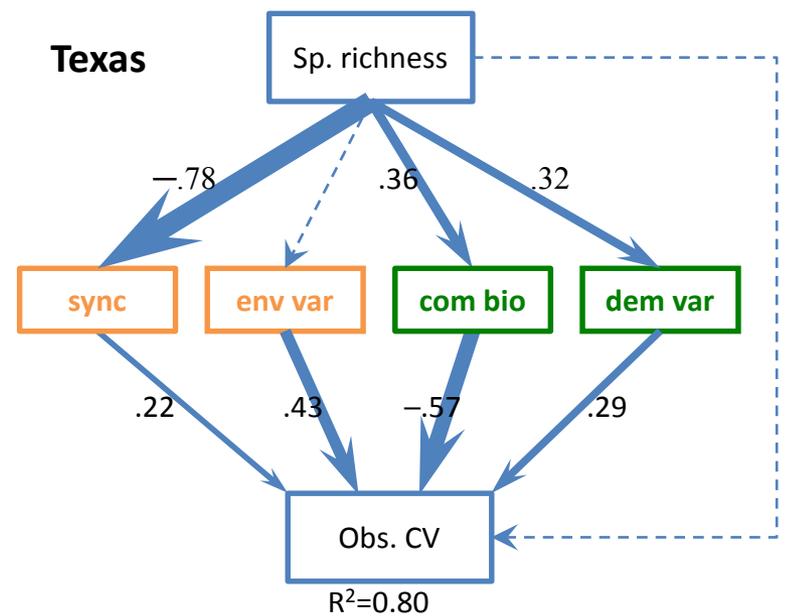
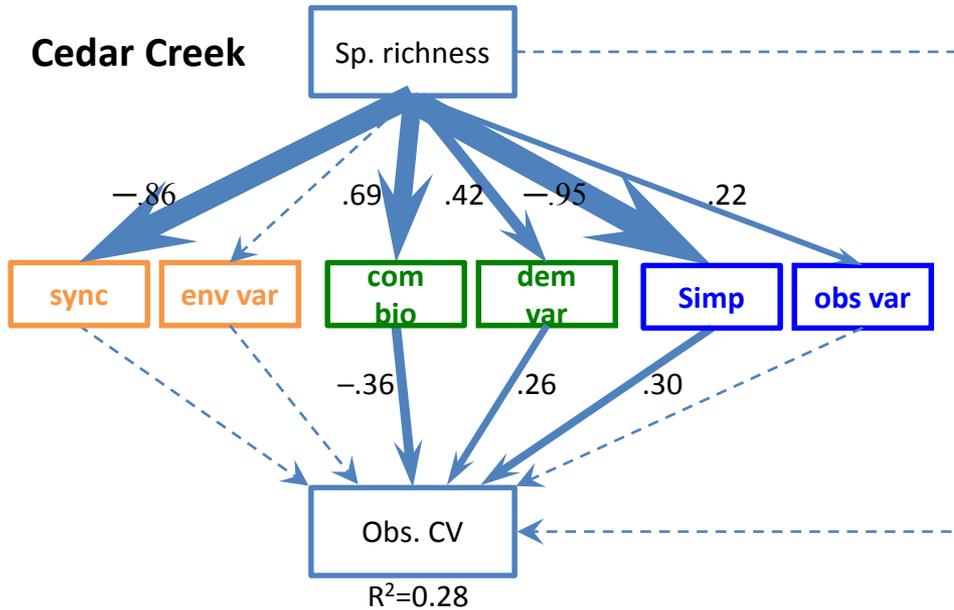
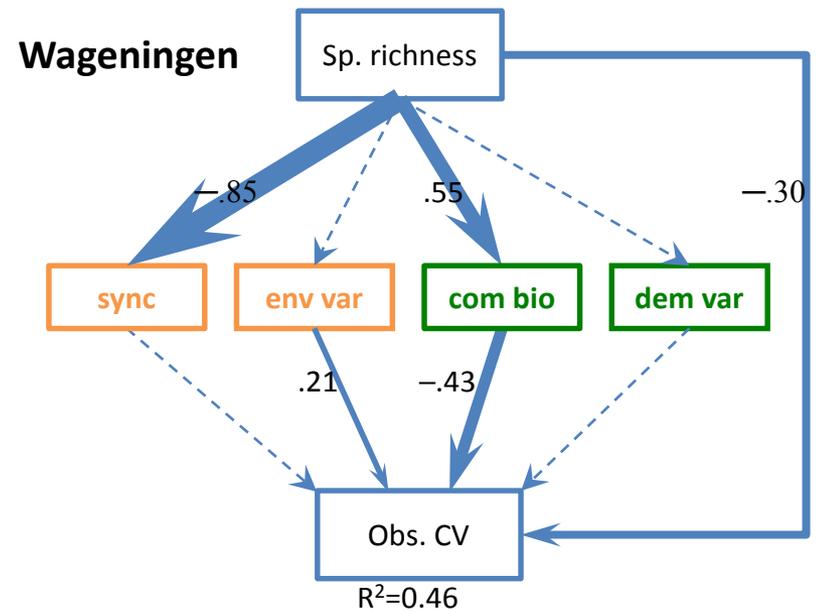
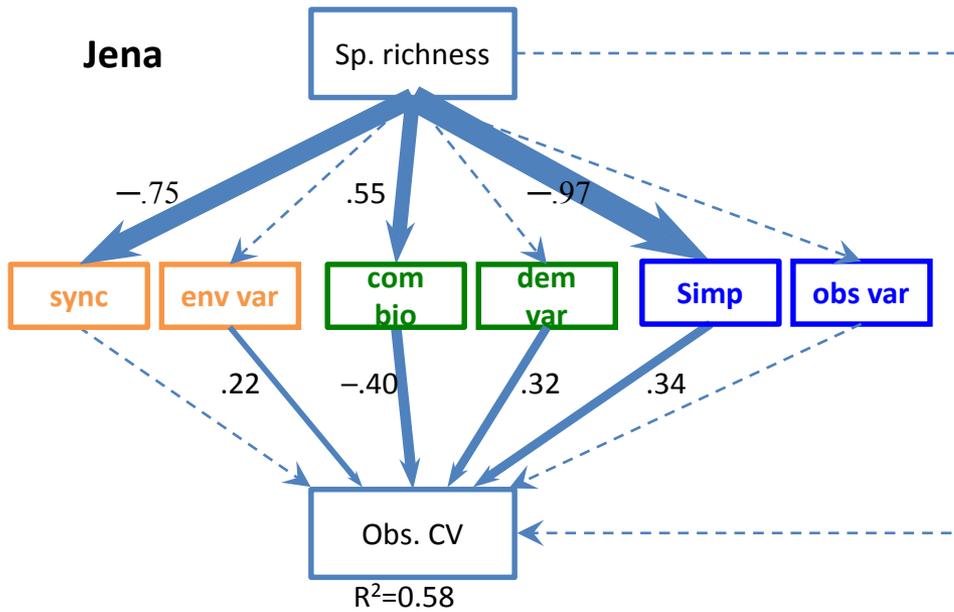
Erreurs indépendantes entre espèces

Trois **mécanismes** par lesquels la diversité stabilise la biomasse totale

Quatre expériences sur la biodiversité



Mécanismes de stabilisation des communautés



Conclusions

- Différences **entre réponses environnementales** des espèces : $1/4$
- Stabilisation par **stochasticité démographique** : $4/4$
- Erreur d'observation : $2/2$

Perspectives - semenciers

- Utiliser les résultats de la théorie en pratique:
 - Semences diversifiées génétiquement ?
 - Multiline cultivars, cultivar mixtures, variety mixtures
- Tester les avancées théoriques en pratique
 - Définir des protocoles & mesures qui permettent de tester des hypothèses / paramétrer un modèle ?
- Développer une théorie appliquée aux questions d'intérêt pour les semenciers:
 - Théorie diversité génétique des cultures en présence de pestes ?
 - Modèle écologie + économie ?

Laboratoire Evolution & Diversité Biologique (EDB, UMR 5174) → 40 chercheurs + 20 doctorants

Objectifs : comprendre les processus écologiques et évolutifs qui génèrent et maintiennent la diversité biologique

- 1 – Inventaire de la biodiversité** (Pyrénées, Méditerranée, Guyane, Madagascar...)
- 2 – Patrons de diversité (gènes, espèces, communautés)**
Dynamique des populations et phylogéographie (histoires passée & future des populations)
Fonctionnement des écosystèmes (interactions entre organismes)
- 3 – Rôle de la sélection dans les populations, la spéciation, les transferts horizontaux...**
Adaptation à nouveaux milieux (C_3/C_4), isolement reproducteur, domestication...
- 4 – Gestion de la biodiversité face aux changements globaux** (olivier, écosystèmes tropicaux...)

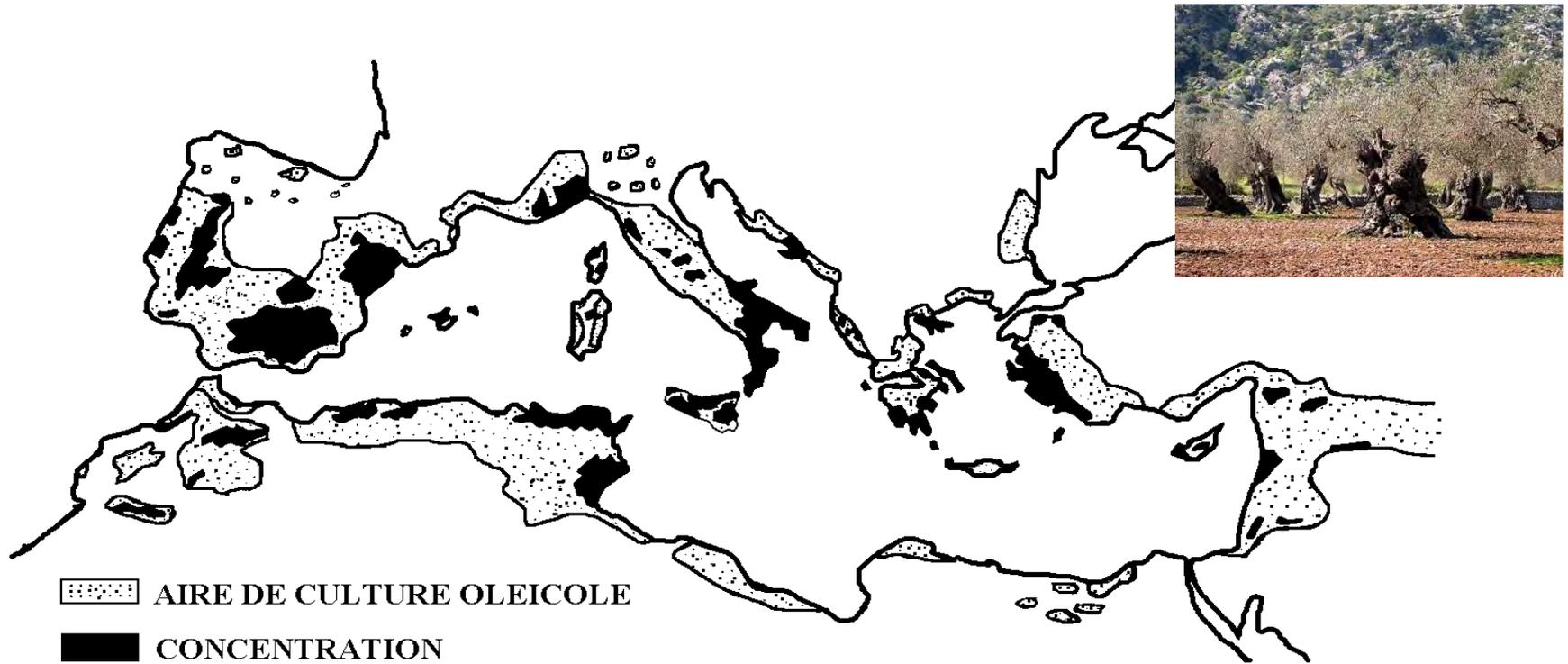
Laboratoire Evolution & Diversité Biologique

Quelles compétences pour les semenciers...

Caractérisation de la biodiversité intra et interspécifique (formes cultivées et sauvages)

- Histoires passée et futures des espèces domestiquées
- Identification de gènes sous sélection (adaptation)
- Gestion et préservation des ressources génétiques pour les générations futures...

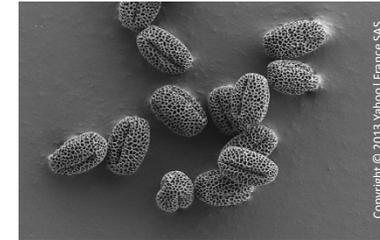
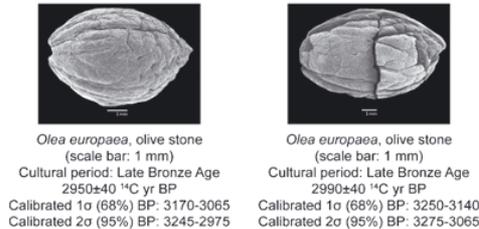
Un exemple traité à EDB : l'olivier méditerranéen



- High-quality oil (6th species; ~ 3% of the world oil production)

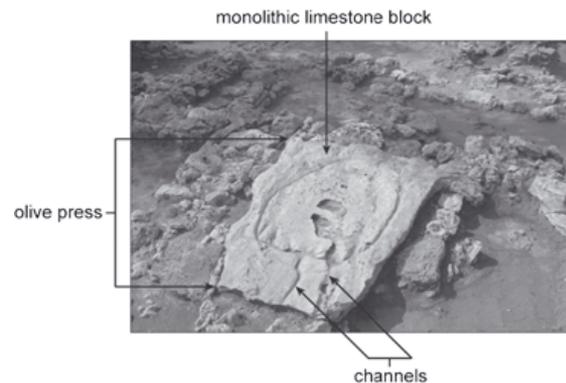
What did we know about cultivated olive origins?

- **Subfossil records (pollen, charcoal):** Regression of oleaster populations during the last glaciations and subsequent expansion at the Holocene (in relation with human activities)

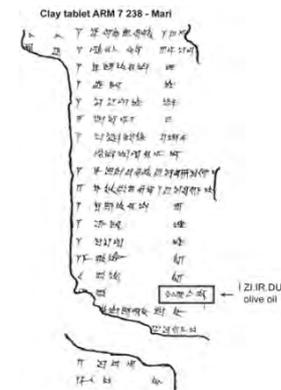


- **Archaeological and historical data:**

→ Development of Olive oil trade during the Bronze Age in the Levant (Kaniewski *et al.* 2012)



Olive press, Iron Age II



Cuneiform tablet, 3750 BP

- **Molecular data:**

→ Two main gene pools (East and West; Besnard *et al.* 2002)

→ multiple local selections, predominantly in the Eastern gene pool; but lack of resolution...

I. Species distribution modelling (SDM)

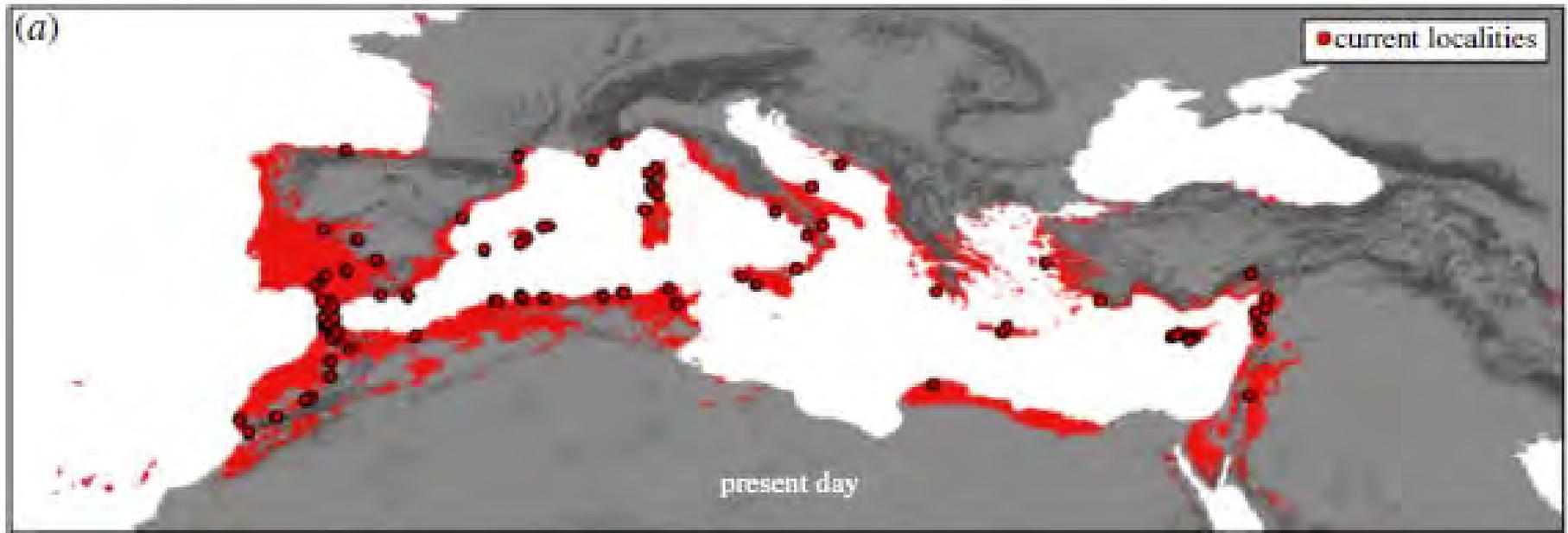
Where did oleasters (wild olives) persist during last glaciations?

Species distribution modelling with MaxEnt

- To predict potential oleaster distribution under present climatic conditions (using environmental variables – temperature – at oleaster locations)
- To project the model in the past at different times and under different scenarios

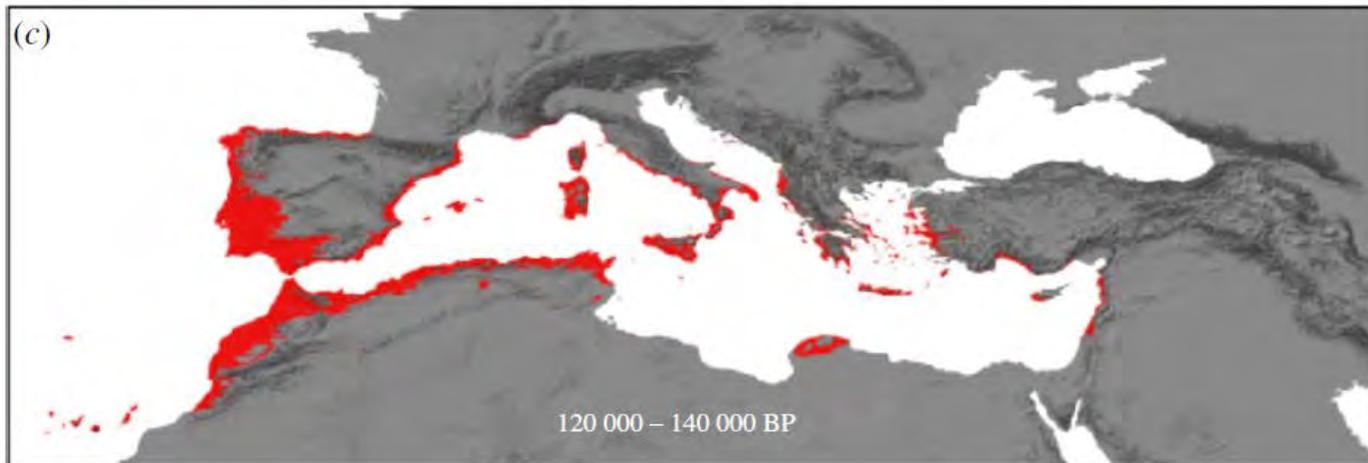
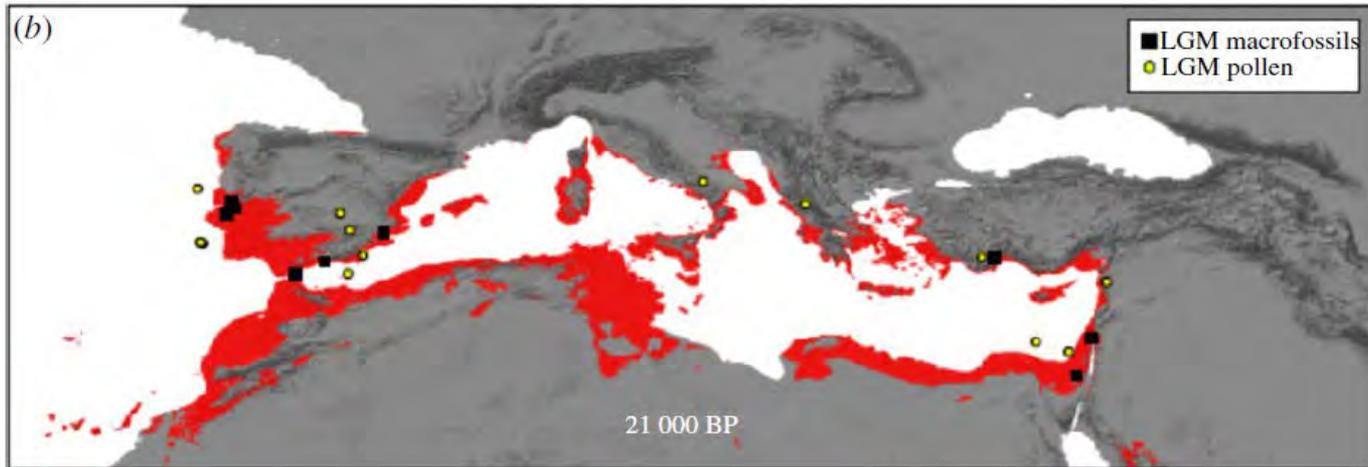
SDM - Results

- Prediction of the olive distribution based on current environmental conditions at 88 oleaster locations (i.e. 11 georeferenced temperature variables from WorldClim)



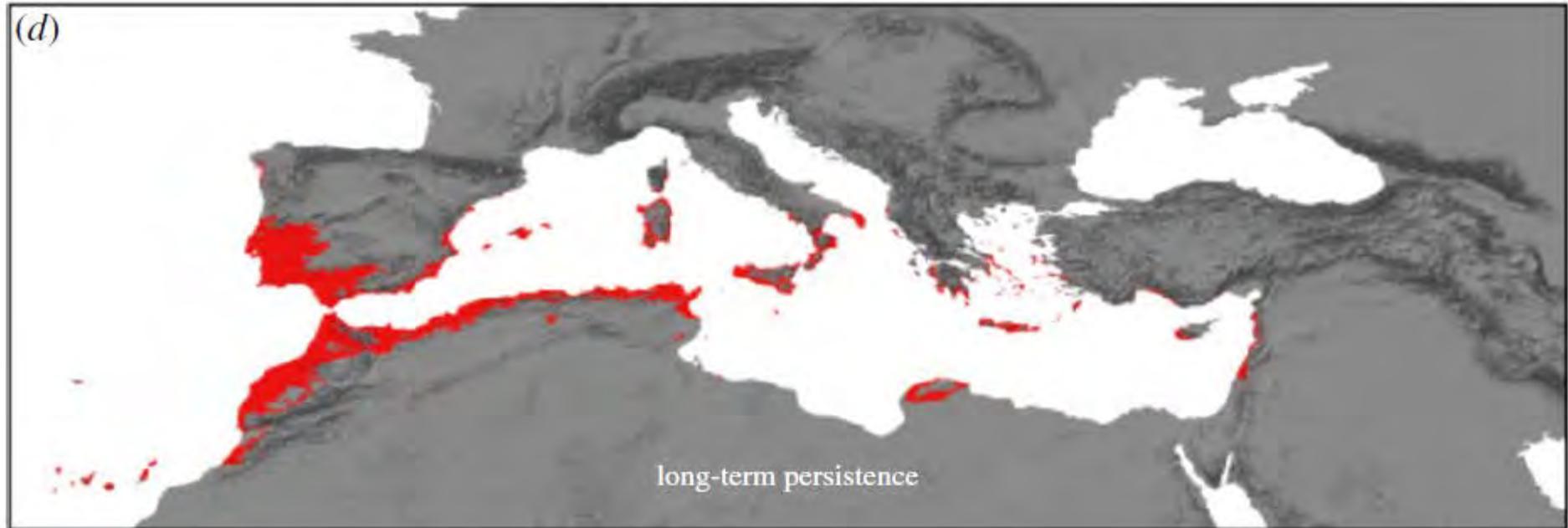
SDM - Results

- Projection of the model under past environments (“Last Glacial Maximum” and “Last Interglacial”)



SDM - Results

- Areas inferred as continuously suitable for the oleaster (on the three analyses)



→ Southern part of the Mediterranean Basin...

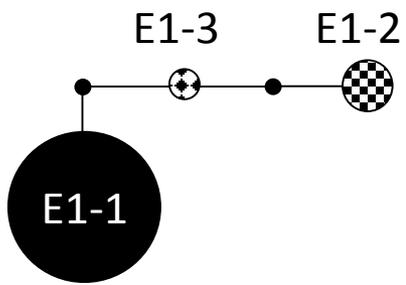
II. Phylogeography of the Mediterranean olive

Plastid DNA: maternally inherited genome (seed dispersal and short coalescence time) → **Strong geographic patterns**

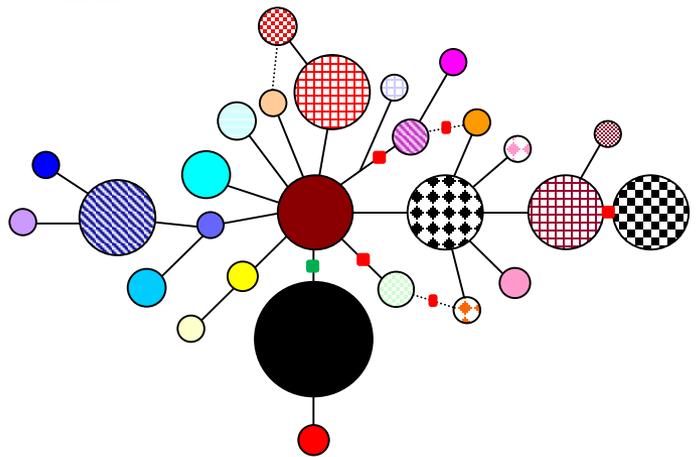
- to identify hotspots of gene diversity (refugia) in the Mediterranean Basin
→ conservation of olive genetic resources...
- to precise origins of the cultivated olive (identification of source wild populations)

Phylogeography of the plastid DNA lineage « E1 »

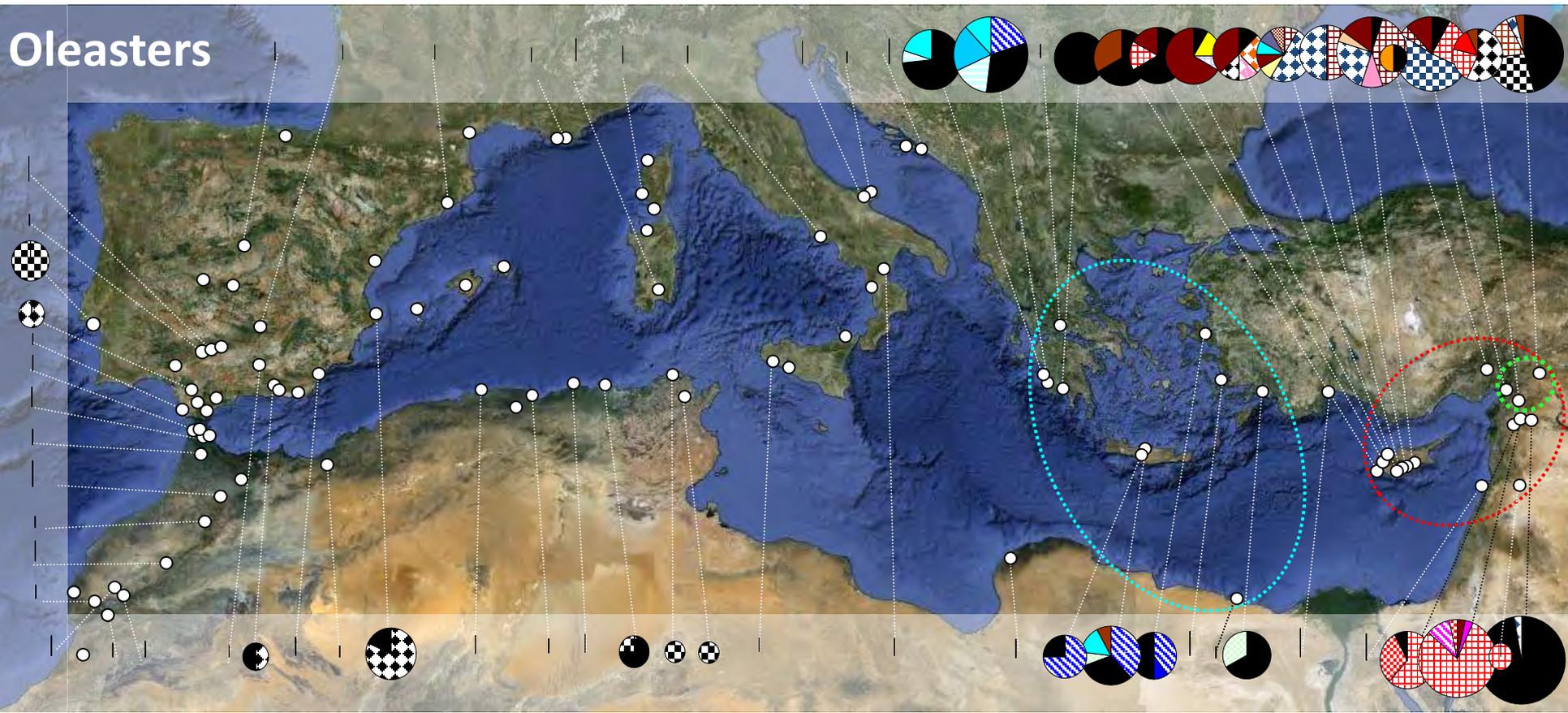
Cultivars :



Oleasters:



Oleasters



Perspectives

Management of genetic resources (*in situ* and *ex situ*)...

Olive phylogeography & history :

- Archaeogenetic study with diagnostic SNPs to trace main cultivated chlorotypes (E1.1, E1.2)...
- Palynology in the Levant during the Neolithic (M. Mathis, Université de Lyon)
- Application of rare ptDNA haplotypes in olive oil traceability
(Perez-Jiménez *et al.* 2013, *PLoS ONE* 6)

Genetics of olive domestication:

- Genomic scan to detect genes under selection (RNA-Seq)...
- Focus on Eastern Mediterranean populations (coll. with B. Khadari...)
 - Primary selection (e.g. fruit size)
 - Avoid linkage disequilibrium due to recent demographic process and admixture...

Le métier de semenciers, les objectifs et outils de sélection pour les espèces de grande culture

Rencontre LABEX TULIP Semenciers

20 Novembre 2013



Plan de l'intervention

- Les **attentes** en matière de création variétale
- Déclinaison en **objectifs de sélection**, Mise en œuvre d'**outils** d'aide à la sélection, Apport des **biotechnologies**
- Le semencier, **producteur de semences**



Les attentes en matière de création variétale aujourd'hui

- **Produire plus** (quantitatif et qualitatif) **avec moins d'intrants** (Produits phytosanitaire / Engrais / Eau / ...)
pour répondre aux :
 - Exigences de la société civile
 - Exigences des politiques publiques & environnementales
 - Evolutions liées aux changements climatiques et à la restriction des terres cultivables
 - A la demande alimentaire mondiale



Quelle déclinaison en objectifs de sélection ?

- Trouver des **Résistances -Durables-** aux maladies et aux insectes ravageurs
- **Augmenter l'Effizienz** d'Utilisation d'Azote
- **Augmenter l'Effizienz** d'Utilisation de l'Eau
- Améliorer les Tolérances à des Stress Thermiques
- Caractérisation et amélioration des **Qualités Spécifiques** des Variétés



Les bases de la sélection... et les challenges actuels

- Les bases du sélectionneur :
 - Pépinières et **diversité génétique** – exploration, caractérisation, création de la diversité et exploitation : espèces sauvages et mutagenèse
 - **Accélération des cycles de sélection** (Contre-saison, haplo-méthodes, SSD, ...)
 - Expérimentation en **micro-parcelles** sur quelques lieux avec quelques répétitions
 - Intégration de **données complémentaires** (génomique, données environnementales, maladies, qualité, ...)
- Des cycles de plus en plus rapides, des dizaines de milliers de parcelles et des millions de données (souvent hétérogènes) à prendre en compte
 - **Disposer d'outils d'interprétation et d'aide à la sélection**



Déclinaison en objectifs de sélection / Améliorer l'Efficiency des variétés

- **Augmentation de l'efficacité des plantes** sélectionnées vis-à-vis de l'azote, de l'eau
 - Exploration des ressources génétiques pour contribuer à cette amélioration
- Sélection à l'ensemble des **stress biotiques** (tolérance aux maladies) et **abiotiques** (stress hydrique, azoté) qui se traduit par des expérimentations en conditions contrôlées
- Développement des variétés adaptées à des conditions de culture sans labour et sous couvert végétal



Outils d'interprétation et d'aide à la sélection / Résistance (durable) aux maladies

- Tests de résistance aux maladies (maladies existent ou pas lors de l'expérimentation)
 - Evaluation variétale en conditions d'infestations renforcées
 - Tests sur explants et plantules en conditions contrôlées
 - Développement et utilisation de kits diagnostic et de marqueurs moléculaires
- ⇒ Nécessité de développer des **bio-tests** ou de rechercher des **marqueurs moléculaires** de gènes ou d'allèles de tolérance à ces maladies
- ⇒ Apport combiné avec la recherche sur les interactions Plantes Micro-organismes doit nous permettre de progresser vers la **résistance durable**



Outils d'interprétation et d'aide à la sélection / Qualité Spécifiques des Variétés

- Tests pour apprécier la **Qualité Spécifique des Variétés** (Digestibilité du maïs fourrage, teneur en huile et acides gras spécifiques du tournesol ou du colza, la teneur en protéine du soja ou du pois, la qualité boulangère du blé tendre, ...)
- ⇒ Développer des **méthodes de phénotypage à haut débit**, rapides, fiables et peu chères... (comme les analyses basées sur l'infrarouge, RMN, spectrométrie, etc...)



Outils d'interprétation et d'aide à la sélection / Analyse et intégration des données

- Intégration des **méthodes statistiques et bio-informatiques** qui permettent d'exploiter les millions de données recueillies et intégrer des données phénotypiques, génotypiques, génomiques et environnementales
- ⇒ Gros besoins d'apports de la recherche fondamentale : mises au point de logiciels de traitement de données, d'algorithmes de traitement et de plateformes de calculs.



Applications des biotechnologies dans les programmes de sélection aujourd'hui

- Utilisation des méthodes pour accélérer les cycles de production (haplo-diploïdisation, embryons immatures, ...)
- **Sélection Assistée par Marqueurs** :
 - Travail préalable : identification des marqueurs moléculaires dans ou à proximité des gènes d'intérêt pour les principaux caractères étudiés (QTL, génétique d'association, ...)
 - Tri dans les programmes de sélection pour éliminer les individus porteurs des allèles défavorables
 - Empilement d'allèles favorables grâce à des marqueurs spécifiques → **construction d'idéotypes**



Applications des biotechnologies dans les programmes de sélection aujourd'hui

- Analyse de la **diversité génétique** à l'aide de marqueurs génétiques ou des données de séquences
 - Caractérisation du matériel génétique utilisé en sélection
 - Compréhension du phénomène d'**hétérosis** pour les plantes hybrides à partir de la connaissance des génomes des lignées – facteurs de complémentarité des génomes
 - Meilleure utilisation de la diversité génétique pour aider à la gestion des pools hétérotiques (espèces hybrides)
 - Propriété intellectuelle



Applications des biotechnologies dans les programmes de sélection aujourd'hui et demain

- Vers la Sélection Génomique

Parallèle avec la sélection chez les races bovines

Même démarche chez les plantes. Existence d'outils de génotypage à très haute densité sur de nombreuses espèces.

Diverses initiatives sur plusieurs espèces végétales (notamment dans les Projets Investissements d'Avenir)

Le génotypage haute densité n'est plus un facteur limitant, le problème est l'analyse des données et l'intégration des interactions liées à l'environnement : création d'algorithmes et besoin en puissance de calcul



Applications des biotechnologies dans les programmes de sélection aujourd'hui (et demain ?)

- La transgénèse :
 - Secteur **sinistré** pour une recherche en France et en Europe, cependant quelques acteurs continuent et peuvent tester par transgénèse la valeur de gènes

(Patience...)



Les attentes en matière de création variétale aujourd'hui

- Notre sélection a besoin :
 - De combiner des savoirs multidisciplinaires
 - De disposer d'un éventail technologique le plus large possible
 - D'une visibilité réglementaire qui permet d'investir - Le processus de sélection est un processus long...

Pour relever les challenges qu'on lui pose



Le semencier producteur de semences

« Si elle n'est pas productible,
la meilleure variété n'existe pas »

- Amélioration quantitative des semences produites
 - **Pratiques agricoles** (volet interprofessionnel)
 - **Qualité intrinsèque des géniteurs** pour les espèces hybrides



Le semencier producteur de semences certifiées

- Amélioration qualitative des semences produites
 - **Pureté spécifique** des semences (intérêt de l'analyse d'image pour la reconnaissance des principales adventices et le tri des sclérotés)
 - Contrôle de la **Pureté Variétale** par rapport aux normes de certification: Tests a priori, a posteriori : Vérification des différents traits conventionnels (résistance Imidazolinone, orobanche, stérilité) ou transgéniques... / Méthodes moléculaires ou biochimique
 - Contrôle de la **Faculté Germinative** (vigueur germinative, vieillissement, interaction avec la production au champ, avec le process industriel, ...)
 - **Enrobage et Protection des semences**



Merci de votre attention





RENCONTRE LABEX TULIP / SEMENCIERS DU SUD-OUEST

CONSTRUCTION D'UNE STRUCTURE DE TRANSFERT

Comment valoriser les résultats de recherche du LabEx?

-

Des pistes pour entamer, assurer et valider un transfert
vers les espèces de grandes cultures.





De nombreuses structures de
valorisation et transfert
technologique existent entre
recherche académique et entreprise





MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

Il existe environ 200 structures de transfert et de diffusion technologiques en région. Des labels nationaux, garantissant le respect d'un cahier des charges rédigé en collaboration avec l'AFNOR, ont été mis en place en 2007 par le ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche.

Il existe trois labels, caractérisant trois types de structures :

La région Midi-Pyrénées s'illustre par la qualité et la force de sa recherche, publique et privée.

La région Midi-Pyrénées s'illustre par la qualité de ses laboratoires et moyens techniques :

- ✓ 8 **instituts CARNOT** dont 2 laboratoires entièrement localisés en région (**CIRIMAT**, **LAAS**)
- ✓ 9 CRT-CRITT, outils technologiques de transfert performants et de qualité (Centre de Ressources Techniques/Centre Régional d'Innovation et de Transfert Technologique).
- ✓ 3 Etablissements d'enseignement supérieur et de recherche (**INPT**, **INSA**, **ISAE**) qui figurent régulièrement dans le Top 5 ou 10 national des Ecoles d'ingénieurs en termes de relations avec les entreprises,
- ✓ 16 **LABEX** (laboratoires d'excellence),
- ✓ 11 **EQUIPEX** (équipements d'excellence).

La région Midi-Pyrénées est la première des rares régions qui répondent aux critères de la stratégie de Lisbonne (investissement en R&D à plus de 3% du PIB régional), avec une intensité de R&D de 4,2% en 2006. En termes d'effectifs, la R&D emploie 26 522 équivalent temps plein.

Cette excellence se traduit également par la reconnaissance nationale du projet IDEX de Toulouse, **UNITI**, et les différentes **initiatives soutenues** par les investissements d'avenir qui consacrent **Toulouse et sa région comme un pôle de stature internationale** :

- ✓ **IRT** (Institut de Recherche Technologique) aéronautique, espace et systèmes embarqués,
- ✓ **TWB** (Plate-forme Toulouse White Biotechnology),
- ✓ Pôle de recherche hospitalo-universitaire en Cancérologie **CAPTOR**,
- ✓ Et la SATT (Société d'Accélération du Transfert de Technologie) : **Toulouse Tech Transfer**.

Mission

Toulouse Tech Transfer - la Société d'Accélération de Transfert de Technologies (SATT) de Midi-Pyrénées – crée de la valeur à partir des résultats de recherche publique, en rapprochant les laboratoires et les entreprises.



Le PRES Université de Toulouse et le CNRS représentent ensemble, en Midi-Pyrénées, plus de 7 800 personnels de recherche, organisés en 400 équipes dans 110 unités de recherche. C'est ce **périmètre** important qui est la source principale des technologies qu'exploite Toulouse Tech Transfer.

Toulouse Tech Transfer est à même d'intervenir pour les autres organismes de recherche publique de la région.

Toulouse Tech Transfer est un opérateur en charge d'investir sur les résultats les plus prometteurs de la recherche afin de créer des actifs significatifs, et de rentabiliser ceux-ci en contribuant au développement et à l'innovation des entreprises.

L'originalité de Toulouse Tech Transfer est de prendre en compte les préoccupations du marché en amont, en maintenant des échanges permanents avec les entreprises. Toulouse Tech Transfer joue pleinement le rôle d'interface entre le monde de la **recherche** et les **entreprises**.



Comment valoriser les résultats de recherche du LabEx?

Des pistes pour entamer, assurer et valider un transfert
vers les espèces de grandes cultures.

Différentes situations





Recherche impliquant un partenariat public – privé

Transfert technologique et
valorisation abordés dans le cadre de
l'accord de consortium





Recherche sans partenariat spécifique public – privé

Recherche conduite sur espèces de grandes cultures

Transfert vers l'entreprise relativement direct:
→ Exploitation des résultats publiés ou
prise de licence sur brevet

Optimisation: Information précoce sur les
travaux/résultats – transfert plus rapide

Recherche conduite sur espèces modèles





Recherche sans partenariat spécifique public – privé

Recherche conduite sur espèces de grandes cultures

Recherche conduite sur espèces modèles

Valorisation par brevet ou publication

Travaux spécifiques nécessaires pour application
aux espèces de grandes cultures

Comment assurer un transfert rapide vers les
espèces de grandes cultures ?

Résultats protégés par brevet ou non





Quels outils ou moyens pour assurer un transfert aux espèces
de grandes cultures?



Question majeure: Portabilité des résultats obtenus
entre le système modèle et la plante d'intérêt
agronomique?



Phase de validation





Phase de validation

Gènes candidats
Technologie /process
...

Ex: Gènes candidats

Validation fonctionnelle sur l'espèce de
grandes cultures

Analyse
transcriptome sur
espèces de
grandes cultures
(GC)

Identification et
phénotypage de
mutants sur
l'espèce GC
(tilling)

Génétique
d'association :
génotypage et
phénotypage de panel
de diversité sur GC

Transgénèse

...

Proposition: regroupement de moyens disposant des outils de validation (génotypage, phénotypage, pop. ad hoc...) assurant cette analyse de portabilité

Partenariat public privé

Comité de direction:
Sélection des projets d'intérêt
pour un développement
appliqué

Support financier
dans le cadre du
LabEx?

Etude FTO
Application
...

Analyse
'Proof of Concept'

Eventuellement produits : allèles d'intérêt, construits...



Pôle de compétitivité agricole et agro-industriel du Sud-Ouest



**Présentation
Pauline LACAPELLE**



Chaire industrielle, partenariale

- Développement d'une activité de recherche d'excellence dans un domaine spécifique
 - Financée par le secteur privé (seul ou à plusieurs)
 - Le poste du responsable de la chaire (souvent un CDD, souvent une personne mondialement reconnu)
 - Des doctorants et post-docs
 - Du fonctionnement
 - Sur des sujets plutôt fondamentaux
-
- C'est différent d'un labo commun
 - C'est différent d'un projet collaboratif
 - C'est différent d'une ou plusieurs thèses CIFRE

Principe de la chaire

- Financement via des fonds privés d'une activité de recherche sans PI
- Financement au travers d'une fondation (de l'université)
 - Défiscalisation à 60%
 - Au travers de l'ANR pour une aide à hauteur des fonds privés (pas de mécénat)
- Financement direct ou indirect
 - Les fonds servent à financer les postes et le fonctionnement
 - Les fonds permettent d'accumuler une grosse somme d'argent dont seuls les intérêts sont utilisés

Avantages / inconvénients

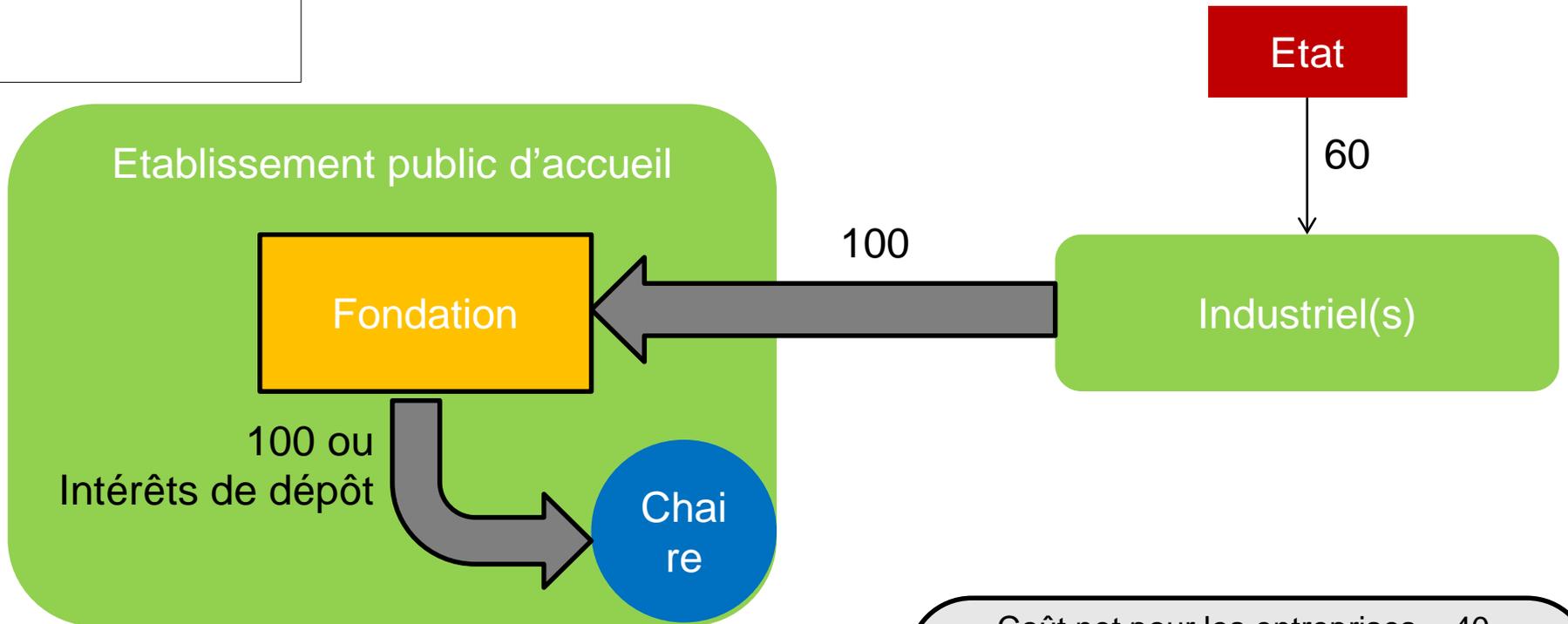
- **Avantages**

- Formation d'un vivier de spécialistes à forte employabilité
- Réseautage au niveau national et international
- Développement de recherches à caractère essentiellement fondamental
- Prestige et incitation fiscale

- **Inconvénients**

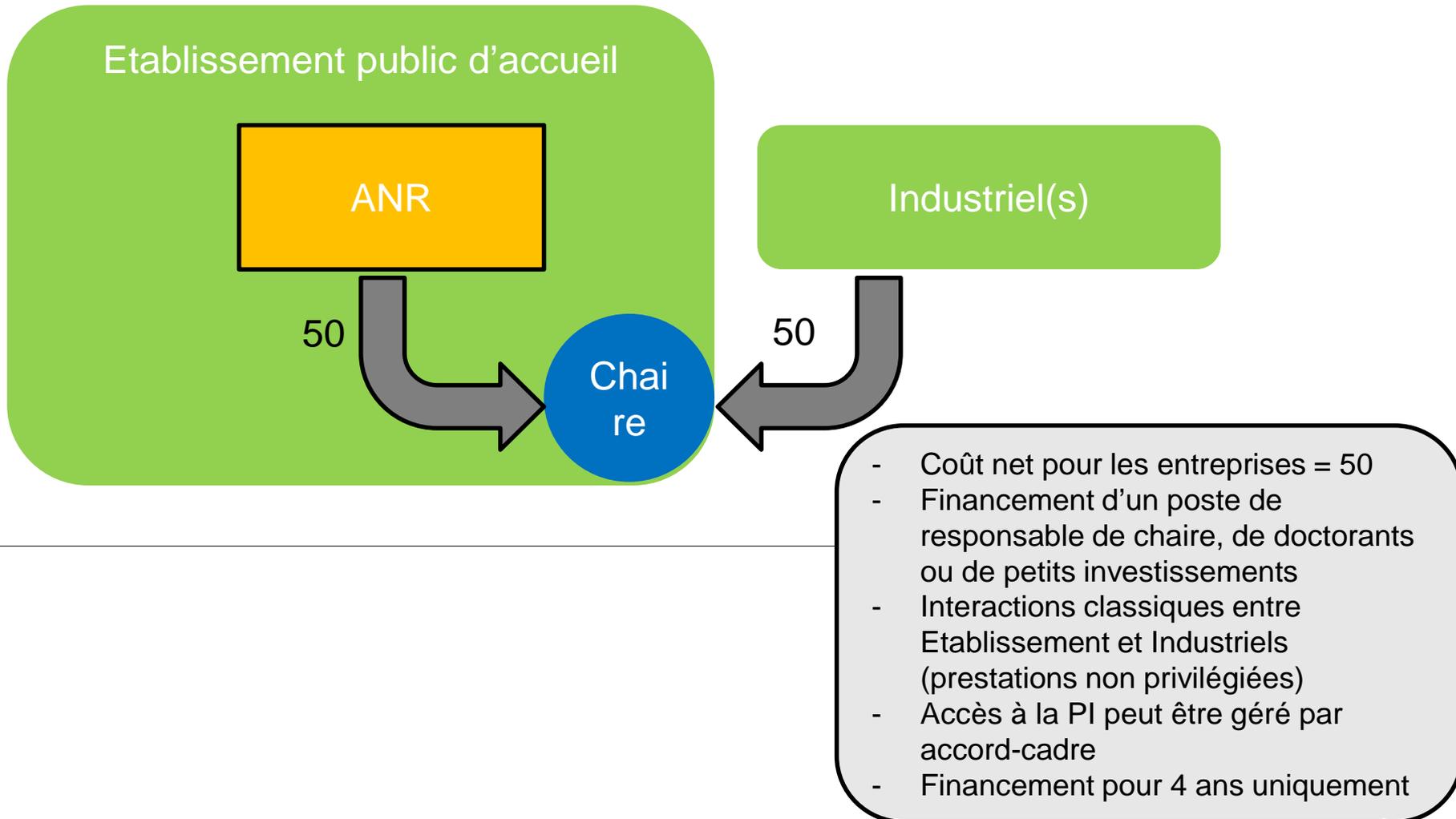
- Notion d'utilité publique:
 - Peu de retour direct pour l'entreprise
 - Pas d'accès privilégié à la PI
- Gestion souvent complexe (plusieurs entrées et sorties différentes pour les fonds : école, fondation, association, etc.)
- Faiblesse des interactions privilégiées et durables

Une chaire partenariale



- Coût net pour les entreprises = 40
- Financement d'un poste de responsable de chaire, de doctorants ou d'investissements
- Interactions classiques entre Etablissement et Industriels (prestations non privilégiées)
- Difficile accès à la PI par les entreprises

Une chaire partenariale (ANR)



En pratique

- Montage prend du temps
 - Investissement réel des industriels (en cash)
 - Accord-cadre à rédiger : plus il y a d'industriels ou de tutelles côté académique, plus c'est compliqué
 - Feuille de route commune à bien partager
- Trouver un « pont » responsable de la chaire
 - Chaire = aussi un moyen de communication
- Prévoir l'adossement potentiel de projets de R&D
 - Maximise l'investissement
- Faire la visite de quelques chaires pour voir leur modalités de fonctionnement
 - Dépend de l'historique des relations
 - Dépend de la thématique



Liste des participants
RENCONTRE LABEX TULIP/SEMENCIERS DU SUD-OUEST
mercredi 20 novembre 2013

Nom	Prénom	Appartenance
ALDON	Didier	LRSV
ANDRE	Thierry	EURALIS
ANDRE	Ollivier	LRSV
ARLAT	Matthieu	LIPM
AUDRAN	Corinne	GBF
AUGIER	Laurent	AGRISUDOUEST
BARLET	Xavier	LIPM
BECARD	Guillaume	LRSV
BENEDETTI	Julie	LRSV
BESNARD	Guillaume	EDB
BOURY Stéphane	Stéphane	CAUSSADE SEMENCES
BRUAND	Claude	LIPM
CANONNE	Joanne	AGRONUTRITION
CAPELA	Delphine	LIPM
CARBONNE	Francis	LRSV
CHERVIN	Christian	ENSAT-INPT
COURTIAL	Audrey	CNRGV
CULLIMORE	Julie	LIPM
DANCHIN	Etienne	EDB
DELARUELLE	Varérie	PIONEER GÉNÉTIQUE
DUMAS	Bernard	LRSV
ESTEVE	Gael	TULIP
GAILLARD	Antoine	MAISADOUR SEMENCES
GALAUD	Jean-Philippe	LRSV
GERARDIN	Christelle	TULIP
GODIARD	Laurence	LIPM
GOUGH	Clare	LIPM
GREZES-BESSET	Bruno	BIOGEMMA
GUILLEMOT-CAPP	Gaëlle	SATT
HAOUY	Alexandra	LRSV
HEMPTINNE	Jean-Louis	EDB
HERRBACH	Violaine	LIPM
JAMET	Elisabeth	LRSV
LACAPELLE	Pauline	AGRISUDOUEST
LANGLADE	Nicolas	LIPM

LEFEBVRE	Benoît	LIPM
LESPINASSE	Denis	SYNGENTA
LUCAS	Olivier	RAGT 2N
MARCHETTI	Marta	LIPM
MAZANCOURT (de)	Claire	SEEM
MAZARS	Christian	LRSV
MAZURIER	Mélanie	ECOLAB
MONJARRET	Michel	AGRISUDOUEST
MUÑOS	Stéphane	LIPM
NOEL	Laurent	LIPM
PICHON	Magalie	INRA
RAFFAELE	Sylvain	LIPM
RIGAUD	Jean-Marie	SATT
RIVAS	Susana	LIPM
ROBY	Dominique	LIPM
SARRAFI	Ahmad	ECOLAB
SAUVIAC	Laurent	LIPM
VAGNER	Valérie	INRA SDAR-DV
VAILLEAU	Fabienne	LIPM
VOISIN	Derry	LIPM