

EFFETS DES VARIATIONS DÉMOGRAPHIQUES SUR LA STRUCTURE GÉNÉTIQUE DE POPULATIONS, DANS LE CADRE D'UNE MALADIE ÉMERGENTE

Thèse de Méline **SAUBIN**¹

Analysée par Claude **POPE**²

Directeur de thèse : Pascal **FREY**, directeur de recherche, INRAE, centre Grand-Est-Nancy

Co-encadrant de thèse : Fabien **HALKETT**, chargé de recherche, INRAE, centre Grand-Est-Nancy

La thèse soutenue par Méline Saubin le 8 décembre 2022 se situe dans l'approche de la protection des plantes par la lutte génétique contre les agents pathogènes par la culture de variétés résistantes, de façon à réduire l'emploi de pesticides. Les gènes de résistance introduits dans les populations cultivées peuvent être contournés à court ou long terme. La durabilité des résistances est étudiée ici, avec une approche novatrice, par les effets des variations démographiques sur la structure génétique de populations pathogènes à l'aide de modélisation mathématique. Le modèle biologique est la rouille du peuplier, les données biologiques sont abondantes et de qualité sur les épidémies récurrentes qu'elle cause, en particulier dans la vallée de la Durance.

L'agent causal principal de la rouille du peuplier est le champignon biotrophe *Melampsora larici-populina* (Mlp) qui est hétéroïque (avec une alternance de reproduction sexuée sur le mélèze et asexuée sur le peuplier). La reproduction sexuée a lieu au printemps sur l'hôte alternant, puis la phase épidémique se déroule sur le peuplier de la fin du printemps à l'automne, avec une dizaine de cycles de multiplication asexuée par des urédospores dicaryotiques (ayant deux noyaux haploïdes, ces spores sont considérées comme diploïdes dans l'étude). Mlp survit à l'hiver sur les feuilles de peuplier sénescentes. Mlp infecte les peupliers cultivés et les sauvages (*Populus nigra*). L'introduction de gènes de résistance qualitative R_{Mlp} dans des clones de peuplier a permis de réduire les épidémies depuis une quarantaine d'années en France, mais leur contournement successif constitue une menace en populiculture. Cette maladie est ré-émergente, car elle réapparaît sur un territoire donné suite à un contournement. L'objet de la thèse est l'étude du contournement de R_{Mlp7} entre 1994 et 1998, alors que la variété Beaupré représentait 80 % du peuplement, avec une approche générique dépassant le cas décrit.

La thèse est organisée en deux parties et sept chapitres, avec un article d'opinion et six articles scientifiques, alliant modélisation théorique et inférence empirique. La première partie,

¹Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur d'AgroParisTech, spécialité : Biologie et écologie des forêts et des agrosystèmes, École doctorale n°607, Science et Ingénierie des ressources naturelles, au sein de l'UMR 1136 INRAE / Université de Lorraine, Interactions Arbres - Microorganismes, INRAE Centre Grand Est - Nancy, 54280 Champenoux, soutenue le 8 décembre 2022.

²Membre de l'Académie d'agriculture de France, section 1 « Productions végétales »

comprenant quatre articles, étudie les conditions favorisant les contournements de résistance, avec un focus original sur le niveau de ploïdie de l'agent pathogène. L'évolution temporelle des populations pathogènes portant la virulence 7 est étudiée par modélisation analytique et épidémiologique. La deuxième partie s'intéresse à l'évolution spatiale des populations pathogènes lors d'expansions démographiques récurrentes par la dynamique de colonisation annuelle des peupliers de la vallée de la Durance à partir des mélèzes.

Le chapitre 1 (article 1) est une synthèse bibliographique sur un thème qui connaît un intérêt croissant, la durabilité des résistances des plantes chez divers pathosystèmes. Méline Saubin propose d'utiliser la génétique des populations pour mieux explorer les interactions plantes-pathogènes et guider la sélection variétale et la gestion des résistances variétales. Elle recommande la construction de modèles contextuels qui intègrent mieux les connaissances sur les processus biologiques tels que les traits d'histoire de vie, les mécanismes moléculaires qui régissent l'adaptation des pathogènes, les modes de reproduction et le niveau de ploïdie des agents pathogènes. Le renforcement de collaborations entre disciplines ouvrira la voie à une meilleure connaissance des trajectoires évolutives des populations pathogènes et améliorera la gestion durable des résistances génétiques.

Les chapitres suivants portent sur le cas d'étude du contournement de la résistance RMIp7 en 1994 qui a conduit au remplacement de la population pathogène de l'Europe de l'Ouest. Le chapitre 2 (article 2) présente la construction d'un modèle démogénétique permettant d'explorer la durabilité d'un gène de résistance face à une population pathogène haploïde ou diploïde, dotée ou non d'une phase sexuée sur un hôte alternant. Les modèles représentent souvent des pathogènes haploïdes, évoluant de manière asexuée, celui-ci est adapté à la diploïdie des rouilles. Les fréquences de fixation de l'allèle de virulence, qui est récessif, sont plus faibles et présentent des taux d'extinction plus élevés pour les individus diploïdes. Il serait donc possible de réduire la probabilité d'invasion d'agents pathogènes diploïdes avec des proportions, soit très faibles, soit très élevées, d'hôtes résistants dans le paysage. Toutefois, la forte stochasticité de la trajectoire évolutive empêche des prévisions précises de la durabilité de la résistance aux organismes diploïdes. Les résultats mettent en évidence des différences dans l'effet du déploiement de l'hôte en fonction du cycle de vie du pathogène. Avec l'alternance d'hôtes, la probabilité d'effondrement de la population pathogène augmente fortement avec la proportion d'hôtes résistants. Par conséquent, les événements de contournement de résistance se produisant à des proportions élevées d'hôte résistant équivalent souvent à un sauvetage évolutif.

Le chapitre 3 (article 3) tente d'expliquer à l'aide de signatures génétiques neutres le changement rapide de la structure génétique des populations pathogènes lors du contournement de RMIp7, avec le remplacement du groupe génétique 'Fossile' par un nouveau groupe génétique 'Cultivé'. L'évolution de marqueurs génétiques neutres est ajoutée dans le modèle développé dans le chapitre précédent, ce qui permet d'étudier la relation entre démographie et sélection. En plus du locus d'avirulence sous sélection, des marqueurs génétiques neutres permettent de calculer un ensemble d'indices génétiques intra et inter-populationnels et de suivre leur évolution au cours du temps. Cette approche pertinente a permis d'identifier un fort effet de fondation sur le compartiment résistant lors du contournement, ce qui rend compte du remplacement rapide entre groupes génétiques. La proportion d'hôtes résistants a un impact sur les signatures génétiques résultant d'un contournement.

Le chapitre 4 (article 4) est une application du modèle basé sur des données empiriques. Il fait le lien entre la démogénétique théorique et les données empiriques sur le contournement de RMIp7 en intégrant les données au modèle lors d'une analyse d'inférence par calcul bayésien approché, avec la méthode ABC. Méline Saubin montre que les données obtenues à partir d'une vingtaine de loci microsatellites permettent d'inférer les paramètres de contournement

de résistance à partir d'échantillons temporels. Elle étudie également les aspects méthodologiques et souligne l'importance de la régularité de l'échantillonnage sur un même hôte au cours du temps pour la qualité de l'inférence. Méline Saubin a calculé des indices de génétique des populations sur 22 échantillonnages annuels de Mlp prélevés sur des peupliers en même lieu sur 30 ans. Les indices sont caractéristiques d'un fort effet de fondation sur le compartiment résistant lors du contournement.

Dans la deuxième partie de la thèse, l'analyse temporelle est complétée par une analyse spatiale comprenant trois chapitres, concernant la dynamique d'expansion spatiale et l'évolution génétique des populations de pathogènes responsables d'une maladie émergente géographique.

Le chapitre 5 introduit l'étude d'une maladie ré-émergente en système spatialisé : le cas d'une colonisation clonale. Méline Saubin présente les différents mécanismes écologiques et génétiques impactant la dynamique des populations sur un front de colonisation, avec le cas des invasions récurrentes de la rouille du peuplier dans la vallée de la Durance dans les Alpes. En amont de la vallée, Mlp colonise chaque année une zone de sympatrie entre peupliers et mélèzes favorable à la reproduction sexuée de Mlp sur le mélèze. À la suite des migrations de spores vers l'aval, Mlp colonise au printemps, par reproductions clonales successives, les peupliers sauvages le long d'une ripisylve continue sur plus de 200 km. L'absence de mélèze en aval ne permet pas la survie de Mlp en hiver.

Le chapitre 6 (article 5) développe un modèle mécanistique-statistique couplé à des données empiriques de l'invasion de la vallée de la Durance et l'estimation de modèles de dispersion. Méline Saubin montre l'importance d'événements de dispersion à longue distance (LDD) sur la structure génétique des populations le long d'un front de colonisation. Ce modèle permet l'estimation de la fréquence des événements de LDD et de la distance moyenne de dispersion (2 Km) à partir des données empiriques obtenues sur quatre années. Les variations inter-annuelles dans l'amplitude des changements génétiques en fin d'épidémie peuvent être expliquées par des variations dans la fréquence de ces événements de LDD.

Le chapitre 7 (article 6) étudie la variabilité inter-annuelle de la structure génétique de Mlp dans la vallée de la Durance. L'utilisation de profils génétiques observés au cours de quatre années de colonisation de la même zone permet de caractériser des événements de colonisation répétés. Les grandes variations inter-annuelles de l'intensité des épidémies et de l'amplitude des changements génétiques, correspondent à l'interaction entre dérive et migration et peuvent être expliquées en partie par des variations dans la fréquence d'événements de LDD. L'expansion de l'aire de répartition implique une diminution de la diversité génotypique et une augmentation de la différenciation de la population.

En conclusion, cette thèse, basée sur une approche pluridisciplinaire associant génétique des populations et épidémiologie végétale par la démogénétique, est d'une très grande qualité. Méline Saubin a montré la capacité d'appliquer des concepts théoriques à la compréhension d'un modèle biologique ayant un cycle de vie complexe sur deux hôtes, et dicaryotique dans sa phase épidémique, et de tirer parti d'un jeu de données épidémiologiques récurrentes remarquables. Toutefois, on peut regretter que si la diversité des marqueurs neutres a bien été discutée, celle des pathotypes n'a pas pu être considérée dans l'analyse.

Cette thèse apporte des résultats fondamentaux novateurs sur la dynamique spatio-temporelle des populations en déséquilibre démographique, et également des outils pour analyser la durabilité d'une résistance. L'utilisation d'une succession d'approches théoriques mathématiques permet la généralité des questions tout en gardant le contexte d'un cas d'étude de suivi de populations dans le temps et l'espace. Méline Saubin va jusqu'à l'inférence de paramètres, en utilisant des données de dynamique des populations et l'analyse de l'évolution

de la structure génétique des populations lors d'épidémies. Six articles issus de la thèse sont publiés dans des journaux scientifiques très reconnus, un autre est en préparation.

C'est un excellent travail qui justifie que cette analyse figure sur le site de l'Académie d'agriculture de France et dans le Mensuel à titre de valorisation.

Article 1 (article d'opinion) : Saubin, M., Louet, C., Bousset, L., Fabre, F., Frey, P., Fudal, I., Grogard, F., Hamelin, F., Mailleret, L., Stoeckel, S., Touzeau, S., Petre, B., & Halkett, F. (2023). Improving sustainable crop protection using population genetics concepts. *Molecular Ecology*, 32(10), 2461–2471. <https://dx.doi.org/10.1111/mec.16634>

Article 2 : Saubin, M., De Mita, S., Zhu, X., Sudret, B., Halkett, F. (2021). Impact of ploidy and pathogen life cycle on resistance durability. *Peer Community Journal, section Evolutionary Biology*, 1(e8):1–31. <https://doi.org/10.24072/pcjournal.10>

Article 3 : Saubin, M., Stoeckel, S., Tellier A., Halkett, F. (2024). Neutral genetic structuring of pathogen populations during rapid adaptation. *Journal of Heredity*, esae036, <https://doi.org/10.1093/jhered/esae036>

Article 4 : Saubin, M., Tellier, A., Stoeckel, S., Andrieux, A., Halkett, F. (2024). Approximate Bayesian Computation applied to time series of population genetic data disentangles rapid genetic changes and demographic variations in a pathogen population. *Molecular Ecology*, 33:e16965. <https://doi.org/10.1111/mec.16965>

Article 5 : Saubin, M., Coville, J., Xhaard, C., Frey, P., Soubeyrand, S., Halkett, F., Fabre, F. (2024). Inferring invasion determinants with mechanistic models and multitype samples. *Peer Community Journal, section Mathematical & Computational Biology*4(e9):1–37. <https://doi.org/10.24072/pcjournal.356>

Article 6 : Saubin M., Becheler R., Andrieux A., Coville J., Fabre F., Frey P., Stoeckel S., Halkett F. Genetic signatures of a range expansion in natura: variation across years. En préparation.

Article 7 (Annexe) : Louet C., Saubin M., Andrieux A., Persoons A., Gorse M., Pétrowski J., Fabre B., De Mita S., Duplessis S., Frey P., Halkett F. 2023. A point mutation and large deletion at the candidate avirulence locus *AvrMlp7* in the poplar rust fungus correlate with poplar R*Mlp7* resistance breakdown. *Molecular Ecology* 32: 2472–2483. <https://dx.doi.org/10.1111/mec.16294>