

VERSION FRANCAISE

OFFRE DE SUJET DE STAGE DE LICENCE 3 / MASTER 1 DE 2 A 4 MOIS

INRAE, UR GAFL (Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes), Domaine St Maurice, 67 Allée des Chênes, 84143 Montfavet Cedex, France.

<https://gafl.paca.hub.inrae.fr>

Encadrantes de stage : Flavie Cussonneau (Doctorante) & Véronique Lefebvre (Responsable d'équipe)

Date de stage : Flexible (période Mars-Août)

Titre : Diversité de *Leveillula taurica*, l'agent de l'oïdium du piment

Contexte : L'ascomycète *Leveillula taurica* est responsable de l'oïdium du piment, entraînant jusqu'à 40 % des pertes de rendement. Ce champignon biotrophe obligatoire possède une large gamme d'hôtes comprenant différentes familles de plantes telles que les *Solanaceae*, *Asteraceae* ou *Cucurbitaceae*. Les études de diversité moléculaire de ce pathogène, principalement basées sur l'ITS (Internal Transcribed Spacer), ont révélé différents clades répartis selon les espèces hôtes (Khodaparast *et al.* 2012). Ce pathogène est présent au niveau mondial, mais la diversité des isolats de *L. taurica* prélevés dans des cultures de piment n'a jamais été étudiée, ni d'un point de vue phénotypique, ni d'un point de vue moléculaire. Malgré l'importance de ce pathogène, très peu d'informations moléculaires existent. Récemment, une première version du génome a été publiée (Kush *et al.* 2020), mais le génome de référence consolidé n'est pas encore disponible. L'étude de la diversité de ce pathogène pourrait contribuer à améliorer les stratégies de sélection de variétés de piment durablement résistantes.

Objectifs : L'objectif du stage est d'étudier la diversité du pathogène *Leveillula taurica*, en conduisant une caractérisation phénotypique et moléculaire. Le calendrier sera adapté en fonction du niveau du stagiaire et de la période de stage.

Stratégies

Partie 1 - Caractérisation phénotypique : Une collection de 100 isolats de *L. taurica* a été créée à partir de prélèvements dans différents pays, différents champs et sur différentes variétés de piment. L'objectif est de collecter un nombre significatif d'images de spores par microscopie sur cette collection. L'analyse des images, à l'aide du logiciel ImageJ, permettra de collecter des mesures phénotypiques concernant la forme des spores (longueur, largeur, aspect). La base de données phénotypiques obtenue sera analysée grâce à des analyses statistiques. Nous cherchons à déterminer s'il existe une structuration de la diversité de *L. taurica* en fonction des informations phénotypiques, et/ou en fonction de l'hôte d'origine ou de l'origine géographique de l'isolat.

Partie 2 - Caractérisation moléculaire : Le seul génome incomplet disponible dans la littérature est insuffisant pour mener une étude de diversité moléculaire de *L. taurica*. En effet, celui est fragmenté et repose sur un seul isolat. Nous développons actuellement une méthode d'extraction d'ADN de haut poids moléculaire afin de conduire un séquençage long fragment. Nous prévoyons de disposer d'un nouvel assemblage du génome avant le stage. Le séquençage en courts

fragments d'une dizaine d'isolats est également prévu avant le stage. Ces séquences permettront de développer une matrice SNP (Single Nucleotide Polymorphism) ; celle-ci nous permettra de développer une méthode de génotypage de cibles connues polymorphes sur l'ensemble de notre collection de *L. taurica*. L'étudiant.e participera à l'extraction de l'ADN des 70 isolats restants, et à leur génotypage à des positions ciblées du génome. Il/Elle utilisera les résultats obtenus pour effectuer une analyse de distance génétique et construire un arbre phylogénétique. En outre, il/elle analysera le niveau de clonalité ou mélange des échantillons de *L. taurica*. Il/elle utilisera également les informations de séquençage obtenues pour explorer certains gènes clés chez d'autres espèces de champignons, tels que des effecteurs de pathogénicité, ou le locus du type sexuel (MAT *Mating Type locus*), connu pour jouer un rôle important dans la structuration des populations de champignon.

Enfin, les données phénotypiques, moléculaires et les métadonnées seront combinées en un seul jeu de données pour conclure sur la structuration de la population de la collection.

Références

Khodaparast, S. A., Takamatsu, S., Harada, M., Abbasi, M., & Samadi, S. (2012). Additional rDNA ITS sequences and its phylogenetic consequences for the genus *Leveillula* with emphasis on conidium morphology. *Mycological Progress*, 11(3), 741–752. <https://doi.org/10.1007/s11557-011-0785-7>

Kusch, S.; Németh, M. Z.; Vaghefi, N.; Ibrahim, H. M. M.; Panstruga, R.; Kiss, L. (2020): A Short-Read Genome Assembly Resource for *Leveillula taurica* Causing Powdery Mildew Disease of Sweet Pepper (*Capsicum annuum*). *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 33 (6), pp. 782–786. DOI: 10.1094/MPMI-02-20-0029-A.

Prérequis

Compétences techniques : intérêt général pour la biologie moléculaire et la microscopie, expérience de base du logiciel R et des statistiques, lecture d'articles scientifiques en anglais.

Compétences non techniques : motivation, curiosité, investissement important.

Pour candidater : envoyez votre candidature à veronique.lefebvre@inrae.fr ET flavie.cussonneau@inrae.fr, en joignant votre CV, votre lettre de motivation d'une page, vos notes de l'année scolaire précédente ainsi que premier semestre de cette année.

Sélection : sur dossier, suivi d'un entretien des candidat.e.s pré-sélectionné.e.s à INRAE GAFL ou en visio-conférence.

ENGLISH VERSION

LICENSE 3 / MASTER 1 INTERNSHIP SUBJECT FOR 2-4 MONTHS

INRAE, UR GAFL (Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes), Domaine St Maurice, 67 Allée des Chênes, 84143 Montfavet Cedex, France,

<https://eng-gafl.paca.hub.inrae.fr/>

Title: Diversity of *Leveillula taurica*, the causing agent of powdery mildew on pepper

Supervisors: Flavie Cussonneau (PhD Student) & Véronique Lefebvre (Team leader)

Internship period: Flexible (March-August)

Background: The ascomycete *Leveillula taurica* causes powdery mildew of pepper, resulting in yield losses of up to 40%. This obligate biotrophic fungus has a wide host range including different plant families such as *Solanaceae*, *Asteraceae* and *Cucurbitaceae*. Molecular diversity studies of this pathogen, mainly based on the ITS (internal transcribed spacer), have revealed different clades distributed by host species (Khodaparast *et al.* 2012). This pathogen is present at a worldwide level on pepper crop, however the *L. taurica* diversity isolated on pepper crops have never been conducted, neither phenotypically, nor molecularly. Despite the importance of this pathogen, very few molecular information exists. Recently, a draft genome has been published (Kush *et al.* 2020), but no reference genome is available yet. Studying the diversity of this pathogen could help breeding strategies for durable resistant pepper varieties.

Goals: The aim of the internship is to study the diversity of the pathogen *Leveillula taurica*, using both phenotypic and molecular characterizations. The calendar will be adapted depending on the trainee level and period of internship.

Strategies

Task 1 - Phenotypic characterization: A collection of 100 isolates have been obtained from different countries, a diversity of fields, and on different pepper varieties. The aim will be to collect a relevant number of spore images by microscopy on this collection. Analysis of the images, using ImageJ software, will permit to collect phenotyping measurements regarding the shape of the spores (length, width, aspect). The phenotypic database obtained will be analyzed thanks to statistical analyses. We aim at determining whether there is a structuration of the diversity of *L. taurica* based on their phenotypical information, and/or according to the host of origin or the geographical origin of the isolate.

Task 2 - Molecular characterization: The draft genome available in literature does not allow to conduct a diversity study as it is fragmented and rely on a single isolate. Currently we are developing a high weight DNA extraction method to perform long-read sequencing. We plan to have a new genome assembly before the internship. Short read sequencing on few isolates is also plan ahead of the training. This sequencing will permit to develop a SNP (single nucleotide polymorphism) matrix to develop a method to genotype targets on our whole *L. taurica* collection. The student will assist in the DNA extraction of the 70 remaining isolates, for the genotyping based on the sequencing previously obtained. The student will use the results obtained to conduct a

genetic distance analysis, build a phylogenetic tree, but also investigate the admixture of the *L. taurica* samples. He/She will also use the sequencing information obtained to explore some key genes in other fungi species, such as virulence effectors, or the MAT (mating type) locus, known to have an important role in the fungi population structuration.

Overall, the phenotypic, molecular, and the metadata will be combined as one dataset to conclude on the population structuration of the collection.

References

Khodaparast, S. A., Takamatsu, S., Harada, M., Abbasi, M., & Samadi, S. (2012). Additional rDNA ITS sequences and its phylogenetic consequences for the genus *Leveillula* with emphasis on conidium morphology. *Mycological Progress*, 11(3), 741–752. <https://doi.org/10.1007/s11557-011-0785-7>

Kusch, S.; Németh, M. Z.; Vaghefi, N.; Ibrahim, H. M. M.; Panstruga, R.; Kiss, L. (2020): A Short-Read Genome Assembly Resource for *Leveillula taurica* Causing Powdery Mildew Disease of Sweet Pepper (*Capsicum annuum*). *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 33 (6), pp. 782–786. DOI: 10.1094/MPMI-02-20-0029-A.

Prerequisites

Hard skills: general interest in molecular biology and in microscopy, basis experience in R software and in statistics, reading scientific articles in English.

Soft skills: motivation, curiosity, a major investment

Application: send your application to flavie.cussonneau@inrae.fr and veronique.lefebvre@inrae.fr, enclosing your CV, a one-page covering letter, your grades from the previous academic year and the first semester of this year.

Selection: on the basis of the application, followed by an interview with pre-selected candidates at INRAE GAFL or by videoconference.