

- I. « Brèves de paillasse » :
  - I.1 : « [Lysenko rising](#) »
- II. [Interaction {Colza \\* Hernie des Crucifères}](#) »

N'hésitez pas à me faire part de vos observations et critiques : [contact](#).

## I. « Brèves de paillasse » :

### I.1. Epigénétique : « Lysenko rising » ?



'Victory over the genes': Cover of *Der Spiegel* on epigenetics. © 2010 DER SPIEGEL.

Rising: Trofim Lysenko (1898–1976). Image: Ria Novosti/Science Photo Library.

Figure 1 : (Source : [Maderspacher F, \(2010\) Current Biology 20 \(19\): R835-R837](#))

En appendice au chapitre de la dernière lettre consacré à l'épigénétique, je pense utile de vous faire parvenir l'article de [Maderspacher \(2010\)](#), Senior Reviews Editor dans la revue *Current Biology* (Figure 1). Cet article relève certainement de la controverse. Mais le champ de la controverse scientifique ne devrait pas être restreint aux seuls chercheurs académiques, et la société civile – au moins la part de celle-ci qui peut parler en connaissance de cause parce qu'elle utilise au quotidien des outils largement validés pour exercer son métier – devrait prendre part au débat. En effet, comme le rappelle l'auteur de ce pamphlet, c'est la société civile qui donne à la recherche académique les moyens de tester ses idées au travers de projets de recherche. Dès lors, il importe aussi que des moyens suffisants soient affectés aux « bonnes » questions, et que les effets de mode ne l'emportent pas trop sur les faits et les urgences.

## II. Interaction {Colza \* Hernie des Crucifères} :

L'objet de ce chapitre est de faire le point sur les connaissances acquises sur l'interaction {Colza \* Hernie des crucifères} en particulier dans le domaine de la résistance génétique, qui demeure le principal mode d'action.

La hernie ne se développe que dans des situations agronomiques assez spécifiques (sols hydromorphes, battants et acides ; en France, essentiellement en Bretagne et dans l'Est – Centre Est, voir [fiche CETIOM](#)). Cependant sa fréquence s'est accrue.

Quoique focalisée sur les problèmes rencontrés par la culture du canola au Canada, la « toile de fond » des informations disponibles en 2012 a été dessinée dans la revue de [Hwang et al.\(2012\)](#). Cependant, à cette date, aucun gène de résistance à *P. brassicae* n'avait été identifié au sens fonctionnel. Pour l'essentiel, ce chapitre fera référence aux résultats obtenus depuis.

### II.1. Biologie de l'interaction :

La hernie des crucifères est causée par un protiste, *Plasmodiophora brassicae*, qui est un parasite biotrophe obligatoire des crucifères. Cette caractéristique et d'autres (par exemple, des interactions spécifiques {hôte \* pathotypes}, difficulté à observer le parasite en absence de tissus de l'hôte) peuvent conduire à établir un certain parallèle avec l'interaction {*Helianthus* \* *P.halstedii*}.

Le cycle de l'interaction est généralement divisé par les différents auteurs en trois (Figure 1) ou deux phases, selon qu'est prise en compte la phase de repos des spores (« resting spores ») dans le sol.

Fig. 1 Life cycle of *Plasmodiophora brassicae*. a Resting spore. b Primary zoospore. c Primary plasmodium in root hair. d Zoosporangial cluster in root hair. e Empty zoosporangium. f, g Secondary plasmodia in cortical cells. h, i Resting spores in cortical cells

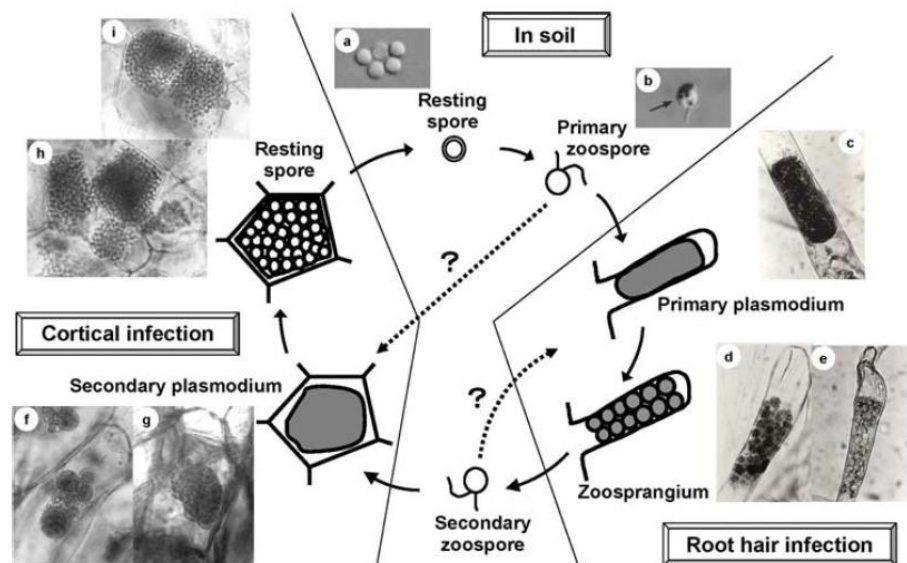


Figure 2 : (Source : [Kageyama et al., 2009](#)) : Cycle de vie de *P.brassicae*

Durant l'interaction entre le parasite et la plante à proprement parler, on distingue ([Kageyama et al., 2009](#)) :

- Une phase d'infection primaire qui prend place dans les cellules épidermiques et les poils de la racine de la plante, y compris chez les plantes non hôtes ou les génotypes considérés comme résistants,

- Une phase d'infection secondaire (stèle et cortex racinaire) qui conduit aux symptômes chez les plantes hôtes sensibles.

Il était auparavant considéré que l'infection secondaire ne pouvait se mettre en place qu'à partir des zoospores secondaires résultant de l'infection primaire, et non directement par les zoospores primaires ([Kageyama et al., 2009](#)). Des travaux récents ([McDonald et al., 2014](#)) ont cependant montré que les deux types d'infection peuvent être obtenues avec les deux types de zoospores. Ces travaux suggèrent aussi que la phase d'infection primaire pourrait jouer un rôle important dans la reconnaissance par l'hôte du pathotype avirulent.

## **II.2. La variabilité des deux génomes du colza (génome C : *B.oleracea* et génome A : *B.rapa*) semble intervenir différemment dans le contrôle de l'interaction :**

Pour simplifier, on peut considérer ([Piao et al., 2009](#)), pour l'amélioration génétique du Colza, que:

- Des gènes de résistance à *P.brassicae*, dominants, pathotype spécifiques, ont été identifiés, y compris avec des approches fonctionnelles, dans l'espèce *B.rapa*,
- La situation concernant la résistance de *B.napus* (avant éventuelle introgression de gènes en provenance de *B.rapa*) et de *B.oleracea* est beaucoup plus floue. En fait, la détection de QTL de résistance dans ces deux espèces est assez ancienne, les cartes génétiques utilisées pour leur détection étaient fragmentaires et assez peu résolutes, et le matériel génétique mobilisé pour leur détection était souvent celui qui existait, comme cela est le cas pour l'analyse d'autres problématiques. Il reste cependant que chez *B.napus* et de *B.oleracea* le contrôle de la résistance est de nature polygénique.

Une sélection des résultats obtenus sur ces différentes espèces est représentée dans le tableau 1.

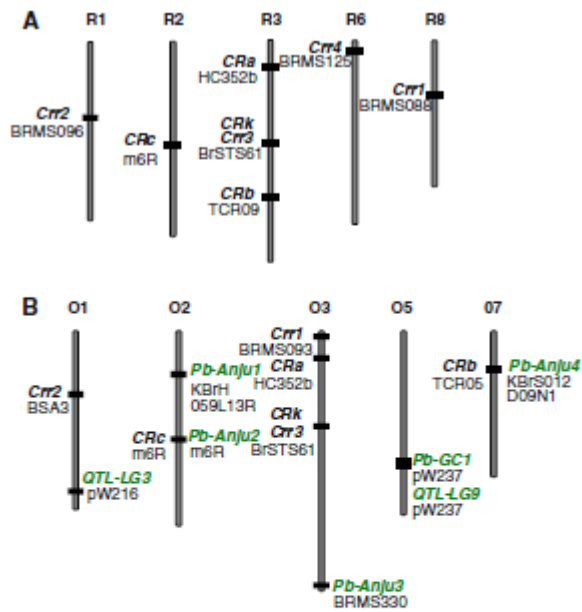
Chez *B.rapa*, trois gènes de résistance pathotype spécifique ont été identifiés, avec différents niveaux de validation fonctionnelle. [Ueno et al. \(2012\)](#) réalisé la cartographie fine du gène CRa, avec de fortes présomptions pour un candidat de type TIR-NBS-LRR dont la validation a été réalisée par la création de mutants dans la séquence candidate. Le gène Ccr1a a été cloné par [Hatakeyama et al. \(2013\)](#). Le candidat est également de type TIR-NBS-LRR. La démonstration fonctionnelle de son rôle dans la résistance a été réalisée par transformation chez *A.thaliana* et gain de fonction chez un génotype sensible transformé. Enfin, le gène CRb a été cartographié finement par [Zhang et al. \(2014\)](#), et dans le segment génomique candidat apparaît également un gène de type TIR-NBS-LRR.

Les travaux mentionnés ci-dessus se sont bien sûr appuyés sur la connaissance du génome d'*A.thaliana*, mais globalement peu d'études ont été consacrées à l'interaction  $\{A.thaliana * P.brassicae\}$ , sauf pour des analyses transcriptomiques globales ou dans la perspective de mettre en évidence des facteurs de résistance non pathotype spécifiques ([Jubault et al., 2008, 2013](#)).

Bien que le contrôle de la résistance apparaisse comme « qualitatif » chez *B.rapa* et « quantitatif » chez *B.oleracea*, une cartographie comparée des locus de résistance chez ces deux espèces ([Nagaoka et al., 2010](#)) fait apparaître une correspondance entre certains des gènes de résistance qualitative mis en évidence chez *B.rapa* et des QTL cartographiés chez *B.oleracea*. (Figure 3).

<p><b><i>Brassica rapa</i></b> (genome A): résistance dominante, pathotype spécifique ?</p>	<p><b><i>Brassica oleracea</i></b> (genome C) et <b><i>Brassica napus</i></b> (AC): résistance quantitative, "horizontale" ?</p>	<p><b><i>Arabidopsis thaliana</i></b></p>
<p>Cartographie fine du gène CRb conférant une résistance dominante à un pathotype de <i>P. brassicae</i>. Gène candidat ? : NBS-LRR</p> <p><i>Zhang et al., 2014</i></p>	<p>Pyramidage de gènes "qualitatifs" et "quantitatifs" de résistance nécessaire pour obtenir un profil de résistance stable chez <i>B. oleracea</i>.</p> <p><i>Tomita et al., 2013</i></p>	<p>Analyse différentielle du transcriptome de génotypes d'<i>A. thaliana</i> sensible et partiellement résistant. ! Le génotype "partiellement résistant" (Bur-0) ne l'est que vis-à-vis d'un des deux pathotypes testés. La résistance quantitative apparaît donc elle aussi pathotype spécifique.</p> <p><i>Jubault et al., 2013</i></p>
<p>Cartographie de QTL de résistance partielle à différents pathotypes de <i>P. brassicae</i></p> <p><i>Chen et al., 2013</i></p>	<p>Cartographie comparée des gènes/QTL de résistance chez <i>B. oleracea</i> et chez <i>B. rapa</i></p> <p><i>Nagaoka et al., 2010</i></p>	<p>Cartographie de QTL de résistance dans la descendance d'un croisement entre génotypes sensible et partiellement résistant d'<i>A. thaliana</i> (stratégie "durabilité" ?).</p> <p><i>Jubault et al., 2008</i></p>
<p>Clonage et caractérisation du gène Ccr1a de résistance à <i>P. brassicae</i>. Identification et validation fonctionnelle d'un gène de type TIR-NBS-LRR. Ce gène s'exprime dans la stèle ou le cortex (seconde phase de l'infection) mais non dans les poils racinaires (première phase de l'infection).</p> <p><i>Hatakeyama et al., 2013</i></p>	<p>Cartographie de QTL de résistance dans une descendance F2:3 de <i>B. oleracea</i> avec 5 isolats du pathogène correspondant à 4 pathotypes. Un QTL à spectre large (i.e. non isolat spécifique) est mis en évidence.</p> <p><i>Rocherieux et al., 2004</i></p>	
<p>Caractérisation moléculaire du gène CRa (dominant, pathotype spécifique) par clonage positionnel. Gène candidat: TIR-NBS-LRR</p> <p><i>Ueno et al., 2012</i></p>	<p>Cartographie de QTL dans la descendance (<i>B. napus</i>) de Darmor-bzh * Yudal. Un allèle fort de résistance serait apporté par Darmor-bzh. Les autres QTL détectés reflètent un contrôle polygénique avec des effets faibles.</p> <p><i>Manzanares-Dauleux et al., 2000</i></p>	

Tableau 1 : Quelques résultats de cartographie de QTL ou d'identification de gènes de résistance de *B. rapa*, *B. oleracea*, *B. napus* et *A. thaliana* à *Plasmodiophora brassicae* :



**Fig. 4** Schematic of chromosomal locations of CR loci and the linked markers in *B. rapa* and *B. oleracea*. The numbers at the top indicate internationally agreed upon *Brassica* reference linkage groups. **a** Eight *B. rapa* CR genes and the linked markers: *Crr1*, *Crr2*, *Crr4* (Suwabe et al. 2006); *CRc*, *CRk* (Sakamoto et al. 2008); *CRa* (Hayashida et al. 2008); *CRb* (Piao et al. 2004); *Crr3* (Saito et al. 2006). **b** The *B. rapa* CR genes and the markers used to map them to the *B. oleracea* linkage groups are indicated on the left side of the linkage groups, and the *B. oleracea* CR genes and the markers used are on the right side of the linkage groups: *QTL-LG3*, *QTL-LG9* (Nomura et al. 2005); *Pb-Anju 1-4*, *Pb-GC1* (this study)

Figure 3 : Source : [Nagaoka et al., 2010](#). Cartographie comparée de locus de résistance chez *B.rapa* et *B.oleracea*.

### II.3. Résistance « hôte spécifique » : Caractérisation des isolats du pathogène : Grille d'hôtes différentiels :

Une grille d'hôtes différentiels (ECD pour European Clubroot Differential) appartenant à *B.rapa*, *B.napus* et *B.oleracea* a été définie depuis quarante ans par [Buczacki et al. \(1975\)](#) (Figure 4) pour les isolats présents en Europe.

Table 1. The European Clubroot Differential (ECD) series: host species with binary values, reproduced after Buczacki et al. (1975).

Differential Number	Differential Host Cultivar Line	Other Name	Binary Value
<b>20 chromosome group (<i>Brassica rapa</i>)</b>			
1	var. <i>rapifera</i> line aaBBCC	Fodder turnip	1
2	var. <i>rapifera</i> line AAbbCC	Fodder turnip	2
3	var. <i>rapifera</i> line AABbCc	Fodder turnip	4
4	var. <i>rapifera</i> line AABBCc	Fodder turnip	8
5	var. <i>chinensis</i> cv. Granaat	Chinese cabbage Pe-Tsai	16
<b>38 chromosome group (<i>Brassica napus</i>)</b>			
6	var. <i>napus</i> line Dc101	Fodder rape Nevin	1
7	var. <i>napus</i> line Dc119	Giant rape commercial	2
8	var. <i>napus</i> line Dc128	Giant rape selection	4
9	var. <i>napus</i> line Dc129	New Zealand resistant rape	8
10	var. <i>napus</i> line Dc130	Swede Wilhelmsburger	16
<b>18 chromosome group (<i>Brassica oleracea</i>)</b>			
11	var. <i>capitata</i> cv. Badger Shipper	Cabbage	1
12	var. <i>capitata</i> cv. Bindsachsener	Cabbage	2
13	var. <i>capitata</i> cv. Jersey Queen	Cabbage	4
14	var. <i>capitata</i> cv. Septa	Cabbage	8
15	var. <i>fimbriata</i> cv. Verheul	Fimbriate kale	16

Figure 4 : Source : [Buczacki et al., 1975](#). Set d'hôtes différentiels pour la caractérisation d'isolats de *P.brassicae*. Tableau reproduit d'après Björling,2013.

Trois génotypes de colza (ECD 6, ECD10, Brutor) ont été décrits comme permettant l'identification de 8 pathotypes ([Somé et al., 1996](#), Figure 5), mais il n'apparaît pas clairement si l'adjonction d'hôtes différentiels supplémentaires permettrait de définir des « sous-pathotypes ». Comme dans le cas d'autres interactions {plante \* pathogène} (ex : mildiou du tournesol), ce type d'outil, quoique nécessaire à une première caractérisation variétale, ne rend pas compte du profil de la variété en facteurs de résistance.

pathotype	ECD6	ECD10	Brutor
P1	+	+	+
P2	+	-	+
P3	-	-	+
P4	-	-	-
P5	-	+	+
P6	+	-	-
P7	-	+	-
P8	+	+	-

Figure 5 : Set de 3 hôtes différentiels (colza) permettant d'identifier 8 pathotypes de *P.brassicae*. D'après Somé et al., 1996. Voir aussi [document CETIOM](#).

#### II.4. Evaluation de la résistance :

Particulièrement lorsqu'il s'agit d'une résistance quantitative, il peut être intéressant, notamment en vue d'une cartographie plus fine de QTL, de mieux caractériser le degré d'invasion de la plante par le pathogène. S'appuyant sur une étude dynamique de l'infection (5 à 42 jours après l'infection) confortée par des analyses cytologiques, [Cao et al. \(2014\)](#) ont mis au point une mesure par PCR quantitative. Ce test s'avère discriminant dès 5 jours après l'infection.

#### II.4. Géniteurs de résistance utilisés en sélection :

La résistance en provenance du chou *B.oleracea* étant de nature quantitative, c'est plutôt vers les sources de résistance d'origine *B.rapa* que les sélectionneurs se sont aujourd'hui tournés. Fait assez rare, l'entreprise allemande NPZ a décrit de façon très explicite comment la variété de colza MENDEL avait été développée (Frauen M. : [Ici](#) et [là](#)). En amont, cette création a nécessité un croisement interspécifique entre ECD 4 (*B.rapa ssp.rapifera*, résistant) et ECD15 (*B. oleracea var. acephala* cv. Verheul), aboutissant ainsi à un « colza re-synthétisé », dont les caractéristiques de résistance ont été ensuite sélectionnées au sein d'une large population HD issue d'un back-cross dans la variété FALCON.

Il peut être intéressant de noter que c'est au sein d'accessions *B.rapa* d'origine européenne que les équipes asiatiques ont à l'origine trouvé des facteurs de résistance pour cette espèce.

#### II.5. Autres moyens de lutte :

En dehors des pratiques agronomiques susceptibles de limiter la progression ou l'impact de la maladie, d'autres moyens de lutte commencent à émerger :



[Kammerich et al. \(2014\)](#) ont montré que des stimulants, développés commercialement (Frutogard<sup>(R)</sup> et PlasmaSoil<sup>(R)</sup>), de la croissance racinaire (extraits d'algues, acides aminés, phosphonates) limitaient significativement le développement de la maladie chez *A.thaliana*, *B.rapa* et *B.napus*. [Lahlali & Peng \(2014\)](#) ont montré que le biofongicide Prestop<sup>(R)</sup> (*Clonostachys rosea*) permettait la réduction du développement de la hernie. Il est fait l'hypothèse que la colonisation des racines par le champignon induit la résistance systémique en impliquant les voies des phenylpropanoïdes, de l'éthylène et de l'acide jasmonique.

## References:

- Buczachi ST, Toxopeus H, Mattusch P, Johnston TD, Dixon GR et al. (1975) Study of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae*. Proposal for attempted rationalization through an international approach. TRANS. BR.MYCOL.SOC. 65 (OCT): 295-303
- Cao T, Rennie DC, Manolii VP, Hwang SF, Falak I et al. (2014) Quantifying resistance to *Plasmodiophora brassicae* in Brassica hosts. [PLANT PATHOLOGY 63 \(3\): 715-726](#)
- Chen JJ, Jing J, Zhan ZX, Zhang T, Zhang CY et al. (2013) Identification of Novel QTLs for Isolate-Specific Partial Resistance to *Plasmodiophora brassicae* in *Brassica rapa*. [PLOS ONE 8 \(12\) : e85307](#)
- Hatakeyama K, Suwabe K, Tomita RN, Kato T, Nunome T et al. (2013) Identification and Characterization of Crr1a, a Gene for Resistance to Clubroot Disease (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) in *Brassica rapa* L. [PLOS ONE 8 \(1\): e54745](#)
- Hwang SF, Strelkov SE, Feng J, Gossen BD, Howard RJ (2012) *Plasmodiophora brassicae*: a review of an emerging pathogen of the Canadian canola (*Brassica napus*) crop. [MOLECULAR PLANT PATHOLOGY 13 \(2\): 105-113](#)
- Jubault M, Lariagon C, Simon M, Delourme R, Manzanares-Dauleux MJ (2008) Identification of quantitative trait loci controlling partial clubroot resistance in new mapping populations of *Arabidopsis thaliana*. [THEORETICAL AND APPLIED GENETICS 117 \(2\): 191-202](#)
- Jubault M, Lariagon C, Taconnat L, Renou JP, Gravot A, Delourme R, Manzanares-Dauleux MJ. (2013) Partial resistance to clubroot in Arabidopsis is based on changes in the host primary metabolism and targeted cell division and expansion capacity. [FUNCT.INTEGR.GENOMICS 13\(2\):191-205](#)
- Kageyama K, Asano T (2009) Life Cycle of *Plasmodiophora brassicae*. [JOURNAL OF PLANT GROWTH REGULATION 28 \(3\): 203-211](#)
- Kammerich J, Beckmann S, Scharafat I, Ludwig-Muller J (2014) Suppression of the clubroot pathogen *Plasmodiophora brassicae* by plant growth promoting formulations in roots of two Brassica species. [PLANT PATHOLOGY 63 \(4\): 846-857](#)
- Lahlali R, Peng G (2014) Suppression of clubroot by *Clonostachys rosea* via antibiosis and induced host resistance. [PLANT PATHOLOGY 63\(2\): 447-455](#)
- McDonald MR, Sharma K, Gossen BD, Deora A, Feng J et al. (2014) The Role of Primary and Secondary Infection in Host Response to *Plasmodiophora brassicae* [PHYTOPATHOLOGY 104 \(10\): 1078-1087](#)
- Maderspacher F (2010) Lysenko rising. [Current Biology 20 \(19\): R835 - R837](#)
- Nagaoka T, Doullah MAU, Matsumoto S, Kawasaki S, Ishikawa T et al. (2010) Identification of QTLs that control clubroot resistance in *Brassica oleracea* and comparative analysis of clubroot resistance genes between *B. rapa* and *B. oleracea*. [THEORETICAL AND APPLIED GENETICS 120 \(7\): 1335-1346](#)
- Piao ZY, Ramchiary N, Lim YP (2009) Genetics of Clubroot Resistance in Brassica Species. [JOURNAL OF PLANT GROWTH REGULATION 28 \(3\): 252-264](#)

Rocherieux J, Glory P, Giboulot A, Boury S, Barbeyron G et al. (2004) Isolate-specific and broad-spectrum QTLs are involved in the control of clubroot in *Brassica oleracea*. [THEORETICAL AND APPLIED GENETICS 108 \(8\): 1555-1563](#)

Somé A, Manzanares MJ, Laurens F, Baron F, Thomas G et al. (1996) Variation for virulence on *Brassica napus* L. amongst *Plasmodiophora brassicae* collections from France and derived single-spore isolates. [PLANT PATHOLOGY 45 \(3\): 432-439](#)

Tomita H, Shimizu M, Asad-ud Doullah M, Fujimoto R, Okazaki K (2013) Accumulation of quantitative trait loci conferring broad-spectrum clubroot resistance in *Brassica oleracea*. [MOLECULAR BREEDING 32 \(4\): 889-900](#)

Ueno H, Matsumoto E, Aruga D, Kitagawa S, Matsumura H et al. (2012) Molecular characterization of the CRA gene conferring clubroot resistance in *Brassica rapa*. [PLANT MOLECULAR BIOLOGY 80 \(6\): 621-629](#)

Zhang T, Zhao Z, Zhang CY, Pang WX, Choi SR et al. (2014) Fine genetic and physical mapping of the CRb gene conferring resistance to clubroot disease in *Brassica rapa*. [MOLECULAR BREEDING 34 \(3\): 1173-1183](#)