



## Offre de thèse (2018 – 2021)

**Financement :** allocation MESR (octobre 2018 – octobre 2021)

**Niveau de salaire :** 1684,93 euros bruts mensuels

**Etablissement :** UMR Qualisud, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse

301 rue Baruch de Spinoza, BP21239, 84916 Avignon cedex 9 Université d'Avignon

### **Déterminants moléculaires de la résistance au puceron vert (*Myzus persicae*) chez le pêcher (*Prunus persica*) : étude multi-omique des réponses à l'infestation et analyse du mode d'action de l'acide 3,5 dicaféolyquinique.**

**Mots clefs :** biopesticide, résistance aux pucerons, phloème, métabolomique *in situ*, transcriptomique, métabolismes primaires et secondaires, LC-MS, GC-MS.

Le sujet de thèse s'inscrit dans un contexte de résistance généralisée des pucerons aux insecticides et d'interdiction prochaine des néonicotinoïdes, molécules aphicides controversées largement utilisées. Dans ce contexte il devient urgent de proposer des solutions alternatives pour le contrôle des populations aphidiennes. Des travaux de l'INRA ont mis en valeur l'existence d'accessions de pêcher présentant une résistance au puceron vert (*Myzus persicae*) liée au locus *Rm* et caractérisée par un phénomène d'antixénose : la plante résistante entrave l'accès au phloème du stylet du puceron au moment de la piqûre ce qui provoque le départ rapide du ravageur.

La thèse a pour objectif d'analyser les réponses à l'infestation par *Myzus persicae* chez des accessions de pêcher sensibles ou porteuses de la résistance *Rm* et à dégager les éléments essentiels nécessaires à la mise en place d'une résistance efficace. Il prendra en compte les spécificités du comportement alimentaire furtif du puceron, dont le stylet explore essentiellement l'espace intercellulaire et les tubes criblés des organes en croissance active, en étudiant les réponses à



l'infestation dans les différents compartiments auxquels a accès le puceron. Il prendra en compte également la cinétique d'induction de la résistance dont la mise en place a déjà été bien caractérisée.

Le programme de recherche s'organisera autour de deux axes développés parallèlement:

(i) Une approche globale sans *a priori* d'une part, visant à caractériser les réponses induites par l'infestation de *Myzus persicae* chez des accessions sensibles au puceron vert ou portant l'un des gènes de résistance *Rm*. Cette approche s'appuiera sur des données de transcriptomique et métabolomique dont l'exploitation permettra de comparer les réponses à l'infestation chez ces deux accessions, en s'appuyant sur de solides connaissances acquises dans la littérature sur l'interaction *Myzus persicae* – *Arabidopsis thaliana*. De cette analyse pourront être dégagées de nouvelles pistes en terme de voies de signalisation (acide salicylique, acide jasmonique, éthylène...), et d'effecteurs impliqués dans la résistance.

(ii) Une approche ciblée sur le principal effecteur phénolique de la résistance d'autre part, pour la localisation *in planta* des pools de 3,5-diCQ pré- et post-infection, grâce à des techniques d'analyse MALDI-MS et immunohistochimiques. Les résultats seront confrontés aux données transcriptomiques pour identifier de possibles mécanismes de transport ainsi que les voies de biosynthèse du biopesticide.

### **Profil du candidat**

Le candidat doit avoir un Master en Biologie, avec une spécialisation en physiologie végétale. Des connaissances théoriques et éventuellement pratiques sont attendues en biologie moléculaire et biochimie végétale.

**Dossier à transmettre avant le 23/04/2018 à [raphael.lugan@univ-avignon.fr](mailto:raphael.lugan@univ-avignon.fr)**

- CV détaillé explicitant les expériences de recherche
- Lettre de motivation explicitant l'intérêt du candidat pour une thèse et pour le sujet proposé
- Relevé des notes de M1 et de M2 ou tout autre document équivalent

## Projet détaillé

### Contexte scientifique

Dans un contexte de résistance généralisée des pucerons aux insecticides et d'interdiction prochaine des néonicotinoïdes, molécules aphicides controversées largement utilisées, il devient urgent de proposer des solutions alternatives pour le contrôle des populations aphidiennes. Il peut s'agir de résistances génétiques durables ou de moyens de biocontrôle comme les biopesticides. C'est un objectif majeur pour l'INRA d'Avignon qui mène un programme de caractérisation génétique et fonctionnelle de la résistance du pêcher au puceron vert et de développement de biopesticides sur lequel s'appuie ce projet.

Le puceron vert (*Myzus persicae*) est un ravageur non seulement direct du pêcher (*Prunus persica*), son hôte primaire, et de nombreux hôtes secondaires mais également indirect au travers des maladies qu'il propage en tant que vecteur de virus. De surcroît, il est très résistant aux insecticides de synthèse [Bass *et al.* 2014]. Le puceron vert est notamment vecteur du potyvirus (*Plum pox virus* ou PPV) responsable de la Sharka causant les plus importants dégâts sur les principales espèces fruitières à noyau du genre *Prunus*, pêcher, abricotier, prunier [Garcia *et al.* 2014] [Rimbaud *et al.* 2015]. Des travaux de l'INRA ont mis en valeur l'existence d'accessions de pêcher présentant une double résistance au puceron vert et à ce virus lorsqu'il est transmis par ce vecteur, notamment chez des variétés rustiques non sélectionnées pour l'amélioration du fruit [Massonié *et al.* 1982a ; 1982b].

Dans le cadre d'un programme de création de variétés de pêcher résistant durablement au puceron vert et de bonne qualité commerciale, des travaux de cartographie génétique ont montré que les résistances au puceron vert découvertes chez cette espèce étaient de type monogéniques dominantes (gène *Rm1* porté par le pêcher ornemental Weeping Flower Peach [Monet et Massonié, 1994 ; Pascal *et al.*, 2017], gène *Rm2* porté par le pêcher porte-greffe Rubira) [Lambert et Pascal, 2011]. *Rm1* et *Rm2* sont tous deux localisés au bas du chromosome 1, et pourraient correspondre à deux allèles du même gène. Ces résistances se caractérisent par un phénomène d'antixénose : la plante résistante entrave l'accès au phloème du stylet du puceron au moment de la piqûre et limite la durée de prélèvement de sève élaborée ce qui provoque le départ rapide du ravageur (entre 1 et 4 jours) et évite ainsi la colonisation [Sauge *et al.* 1998 a, b]. De plus, les plants résistants montrent une défense accrue 48 h après l'attaque, avec une efficacité contre les pucerons 4 fois supérieure aux plants résistants non infestés [Sauge *et al.* 2002]. Enfin, cette résistance s'accompagne de symptômes typiques de la réponse hyper-sensible (RHS) : spots décolorés ou anthocyaniques aux sites de piqûre et nécroses foliaires [Sauge *et al.* 1998 b].

Des travaux de caractérisation fonctionnelle ont montré que ces résistances au puceron vert déterminées par les gènes *Rm* s'accompagnent, dans les heures qui suivent l'attaque, de l'émission d'un cocktail précis de composés organiques volatiles (COV) comprenant le méthylsalicylate [Staudt *et al.*, 2010], ainsi que de profondes modifications des teneurs en métabolites primaires et secondaires dans les organes infestés (Poëssel *et al.* 2006), notamment en composés phénoliques (Poëssel *et al.* 2002). En particulier, l'infestation détermine chez les plantes résistantes l'accumulation d'un polyphénol dérivé de l'acide caféique, l'acide 3,5-dicaféoylquinique (3,5-diCQ). Cette molécule, formée à partir de l'acide chlorogénique (acide 5-caféoylquinique) sous l'action d'une acyltransférase, présente à la fois une forte

activité phagorépusive et une forte toxicité pour le puceron vert, ainsi que pour toutes les espèces de pucerons testées à ce jour. Ainsi, le 3,5-diCQ ainsi que son analogue structural l'acide chicorique ou acide dicaféoyltartrique, font l'objet d'une valorisation (brevet) en tant que biopesticides. Un projet EcoPhyto, « DicaBio », labellisé par le pôle Terralia, est en cours (2016-2019), mené par 4 Unités de l'INRA Avignon en partenariat avec une entreprise phytopharmaceutique française pour développer ces molécules naturelles comme biopesticides.

A l'heure actuelle, un travail de clonage positionnel est en cours à l'unité INRA Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes (GAFL) à Avignon, pour caractériser ces gènes de résistance. La nature exacte des gènes *Rm1* et *Rm2* n'est pas complètement connue mais ils pourraient faire partie de la famille des protéines de résistance de type « nucleotide binding site leucine-rich repeat » (NBS-LRR), caractérisée chez de nombreux autres systèmes plante-pathogène [Baggs *et al.* 2017 ; Jia *et al.* 2015]. Il s'agit de récepteurs dont le domaine LRR, très variable, détecte de manière directe ou indirecte la présence d'un facteur d'avorulence produit par le pathogène. Cette détection déclenche l'activation de la protéine et de voies de signalisation qui induisent la résistance. Cette induction s'accompagne de profonds changements métaboliques. Les gènes de résistance aux pucerons déjà clonés font partie de cette famille : *Mi-1.2* conférant la résistance aux nématodes à galles et au puceron *Macrosiphum euphorbiae* chez la Tomate (Rossi *et al.* 1998) et *Vat* conférant la résistance à *Aphis gossypii* chez le Melon, cloné par l'équipe du GAFL (Dogimont *et al.* 2014). La nature des gènes responsables de la synthèse du 3,5-diCQ dans le contexte de la résistance est également en cours d'exploration.

## Analyse globale des réponses à l'infestation et des facteurs de résistance

Les travaux de Sauge *et al.* (2011) ont montré que la résistance induite se met en place entre 24h et 48h après le début de l'infestation, ainsi qu'une réaction nécrotique qui peut se développer ensuite pendant quelques jours après que les pucerons aient quitté les plantes. Elle demeure localisée aux points de pique mais peut aussi provoquer le dessèchement des feuilles apicales (Massonié *et al.*, 1982). Le caractère dominant et monogénique de la résistance chez Rubira ainsi que le déclenchement d'une réaction hypersensible suggèrent une réaction immunitaire dans laquelle *Rm2* serait impliqué dans une relation "gène pour gène" avec un gène d'avorulence de *M. persicae* (Sauge *et al.*, 2002). La protéine *Rm2* pourrait ainsi reconnaître un éliciteur aphidien associé à l'infestation, comme cela a été proposé également pour la protéine CC-NBS-LRR associée au locus *Vat* du melon infesté par *Aphis gossypii* (Dogimont *et al.*, 2014). Le travail de clonage positionnel et de cartographie fine des régions génomiques contenant *Rm1* ou *Rm2* mené actuellement au GAFL a permis de localiser ces gènes dans une même région d'environ 125 kb contenant une vingtaine de gènes prédits. Parmi ceux-ci, un seul gène est annoté pour son implication dans les relations plantes – pathogènes. Il s'agit d'un gène NBS-LRR comme attendu, de la famille TIR-NBS-LRR (TNL). La caractérisation complète de ces gènes chez les deux accessions résistantes, WFP et Rubira, est en cours. Il est vraisemblable que *Rm1* et *Rm2* soient des allèles d'un même gène et seront désignés ci-dessous indifféremment *Rm*. La durabilité des caractères dominants monogéniques de résistance est globalement liée à l'existence dans le fond génétique de caractères mineurs polygéniques (Palloix *et al.*, 2009). Les analyses transcriptomiques et métabolomiques permettront ici d'explorer sans *a priori* les mécanismes génétiques et métaboliques potentiellement impliqués dans la réponse à l'infestation.

**Le dispositif expérimental s'appuie globalement sur une comparaison entre un génotype sensible (WFP) et résistant (Rubira) en réponse à l'infestation.**

**Une analyse transcriptomique** des réponses de Rubira et WFP à l'infestation sera réalisée en 2018 en préliminaire de la thèse, dont les données constitueront une ressource importante pour l'interprétation des résultats et la recherche de candidats. Le génome du pêcher a été précisément séquencé, annoté et étudié (Verde et al 2013, Verde et al 2017), tout comme son transcriptome que les dernières analyses situent à 23 390 séquences (GDR, Genome Database for Rosaceae, <https://www.rosaceae.org/analysis/215> ). Les accessions WFP et Rubira ont été reséquencées en Illumina et seront reséquencées par la technologie long reads Oxford Nanopore® en 2018. Dans ce contexte, l'utilisation des nouvelles approches de séquençage haut débit est très pertinente, notamment dans le cadre d'une analyse d'expression différentielle du transcriptome (RNAseq). Nous avons d'ores-et-déjà engagé le travail de comparaison des transcriptomes de pêcheurs sensible et résistant ainsi que de leur réponse à l'infestation par *M persicae*. Les données issues de ces analyses constitueront donc une base fertile de travail pour le projet de thèse. Un focus sera notamment fait sur :

- les régulations d'expression des gènes de résistance et les acteurs de la réponse hypersensible,
- les voies de synthèses des acides salicylique et jasmonique ainsi que de leurs formes méthylées,
- les acteurs des voies de synthèse des polyphénols et plus précisément autour des acides chlorogéniques puis dicaféoylquiniques,
- l'expression des gènes liés à l'homéostasie membranaire et pariétale,
- les transporteurs cellulaires (dont types MATE et ABC),
- les métabolismes primaires mais également les acteurs liés aux flux de fer, d'acides aminés et de l'équilibre redox.

De plus, des pistes physiologiques nouvelles seront potentiellement produites par l'approche RNAseq, dont certaines pourront faire l'objet d'une analyse plus fine au cours du travail de thèse.

**Sur le plan métabolique**, des profilages seront effectués en GC-TOF, UPLC-QTOF, UPLC-TQ. En particulier une analyse de l'accumulation des composés phénoliques dans les apex de WFP et Rubira pré- et post-infestation ; il s'agira notamment de chercher les précurseurs du 3,5-diCQ ainsi que d'éventuelles formes conjuguées. Au-delà du 3,5 diCQ, d'autres segments du métabolisme sont impliqués dans la défense des plantes. C'est le cas des acides aminés qui peuvent agir en tant qu'éléments effecteurs ou régulateurs de réponses de défense comme l'acide pipécolique (Vogel-Adghough *et al.*, 2013) et l'acetylornithine (Adio *et al.*, 2011). Il est par ailleurs démontré que des variations de teneurs en métabolites primaires dans le phloème peuvent avoir une action antixénotique, la réduction contrôlée des pools phloémiens de saccharose ou de glutamine par exemple diminue la valeur nutritionnelle du phloème pour le puceron et pourrait participer à l'échec d'ingestion observé (Karley *et al.*, 2002). Des profilages métaboliques en GC-MS seront donc effectués pour suivre les cinétiques de variation des métabolites primaires au cours de l'infestation: holosides et diholosides, polyols, acides aminés et acides organiques. Il est également possible d'étudier le contrôle hormonal de la réponse chez le pêcher, qui a

fait l'objet d'une synthèse par Louis et Shah (2013) sur le couple *Myzus persicae* – *Arabidopsis thaliana*, considéré comme un modèle pour l'étude des interactions plante - pucerons. La séquence d'activation des réponses de la plante au puceron fait intervenir des cascades de transduction impliquant notamment l'acide salicylique, bien que la littérature soit encore contradictoire à ce sujet (Kloth *et al.*, 2016 ; Stewart *et al.*, 2016). Par exemple, des expériences menées sur des lignées d'*Arabidopsis* KO pour Eds5, requis pour la synthèse de SA, ont montré que ce dernier n'est pas essentiel pour le développement de la résistance au puceron vert (Morgan et Thompson 2001). Il a par ailleurs été proposé que les insectes pourraient activer en leur faveur la synthèse de SA, qui a un effet souvent antagoniste sur la synthèse de JA, bien que le rôle du JA dans la réponse d'*Arabidopsis* au puceron vert soit encore ambigu (Louis et Shah, 2013). Enfin, une analyse non-ciblée sera également conduite en GC-MS et LC-MS sur des extraits de puceron à la recherche de marqueurs métaboliques associés à l'échec nutritionnel.

### **Analyse fonctionnelle ciblée sur un effecteur phénolique de la résistance.**

Le 3,5-diCQ, présent constitutivement chez le pêcher et dont le caractère à la fois répulsif et toxique vis-à-vis de *M. persicae* en fait un acteur potentiellement clef de la résistance à l'infestation chez Rubira, s'accumule fortement après infestation, mais les modalités précises de cette accumulation sont inconnues, que ce soit en termes de cinétique, de compartimentation/transport ou de cible(s). La question du mode d'action du 3,5-diCQ est d'abord étroitement liée à celle de sa compartimentation et de sa mobilisation, en lien avec le comportement alimentaire du puceron (Hewer *et al.*, 2011). En effet, les données disponibles suggèrent que *M. persicae* n'est pas directement intoxiqué par Rubira car la mortalité des nymphes reste négligeable (Sauge *et al.* 1998a), mais plutôt inhibé dans ses tentatives d'ingestion de phloème (Sauge *et al.*, 1998b). Une réduction importante des phases d'ingestion peut traduire la présence d'obstacles extra ou intracellulaires sur le chemin du stylet, de nature mécaniques (callose, P-protéines) ou chimique, liés par exemple à la présence de molécules phagorépusives ou toxiques lors des ponctions cellulaires ; le 3,5-diCQ pourrait participer à la formation d'obstacles solides tels que des polymères ou des complexes dans l'apoplaste. L'analyse par EPG (Electrical Penetration Graphs) du comportement de *M. persicae* sur Rubira suggère fortement une incapacité à localiser les vaisseaux phloémiens, en lien avec des facteurs de résistance apoplastiques plutôt qu'intracellulaires (Sauge *et al.*, 1998b). Les composés phénoliques sont réputés stockés en abondance dans la vacuole de certains tissus, notamment vasculaires ou épidermiques et parfois sous des formes conjuguées (Tohge *et al.*, 2011). Ils seraient mobilisés vers différents compartiments cellulaires et tissulaires pour la biosynthèse de lignine (parois) ou la protection contre les UV et les bioagresseurs (Cheynier *et al.*, 2013), sans que les mécanismes de transport ne soient clairement établis à ce jour. L'hypothèse la plus vraisemblable à ce sujet étant l'intervention de transporteurs de type Multidrug And Toxin Extrusion (MATE) ou ATP-Binding Cassette (ABC) (Hwang *et al.*, 2016 ; Santos *et al.*, 2017). Quelques auteurs mentionnent aussi des cas de transport phloémiens, par exemple des composés phénoliques totaux chez *Macrosiphum rosae* ou d'acides caféoylquiniques dans les feuilles âgées de *Coffea canephora* (Peng et Miles, 1991, Mandolot *et al.*, 2006). La présence de quantités significatives de 3,5-diCQ dans le phloème aurait pour conséquence une absorption par le puceron et donc une inhibition potentielle de protéines cibles, une saturation des peroxydases et catéchol oxydases de l'intestin (Peng et Miles 1991), ou la



perturbation de la microflore intestinale, voire de l'endosymbiote des pucerons *Buchnera aphidicola*, de par ses propriétés antimicrobiennes.

Un autre ensemble de questions est lié au devenir biochimique du 3,5-diCQ après infestation, il pourrait agir sous sa forme native ou après chélation de métaux ou polymérisation. Comme tous les composés phénoliques, le 3,5-diCQ possède des propriétés pouvant contribuer à son action biopesticide : c'est un composé réducteur, chélateur de cations, en particulier du fer (Li *et al.*, 2018), et il se transforme en présence d'oxygène en polymères de quinone ayant des propriétés complexantes vis-à-vis des protéines. A ce titre une quantité élevée de 3,5-diCQ est susceptible de contrecarrer l'action des polyphénol oxydases présentes dans la salive de *M. persicae* (Urbanska *et al.*, 1998). Il a également été montré que les acides 3,5-dicaféoylquiniques sont capables de se fixer directement sur le site catalytique de certaines protéines comme l'intégrase du virus HIV. Dans le contexte d'une infestation du pêcher, le 3,5-diCQ pourrait interagir avec des éléments protéiques au contact de la gaine salivaire des stylets lors de leur trajet apoplasmique, empêchant par exemple sa formation ou son durcissement, qui requiert la présence d'oxygène (Will *et al.*, 2012). Il est également possible qu'il exerce une action inhibitrice sur des protéines de la salive aqueuse injectée dans les espaces intracellulaires lors des épisodes de sondage à la recherche des tubes criblés, dont la vocation est de neutraliser les défenses de la plante (Hewer *et al.*, 2011).

Enfin, les voies de biosynthèse du 3,5-diCQ chez *M. persicae* ne sont pas décrites non plus. La synthèse de 3,5-diCQ chez différentes espèces implique la transestérification de l'acide chlorogénique (acide 5-caféoylquinique), mais la nature du groupement acyl n'est pas établie *in vivo* : il peut s'agir du caféoyl-coA, ou bien de p-coumaroyl-CoA, sous l'action d'une HCT/HQT (hydroxycinnamoyl-CoA shikimate/quinone hydroxycinnamoyl transferase), la réaction étant complétée dans le second cas par une C3'H (p-coumaroyl-3-hydroxylase) ; il est également possible que le donneur de groupement acyl soit l'acide chlorogénique, faisant intervenir une protéine inconnue à ce jour (Moglia *et al.*, 2014 ; Legrand *et al.*, 2016). Enfin une troisième voie a été proposée dans les racines de patate douce à partir du 1-cinnamoyl glucose, transformé en 5-caféoyl quinate via le 1-p-coumaroyl glucose et le 1-caféoyl glucose grâce à 3 enzymes : une UDP-glucose:cinnamate glucosyltransferase, une p-coumaroyl-glucose hydroxylase et une hydroxycinnamoyl glucose:quinone hydroxycinnamoyltransferase, le 5-caféoylquinone étant converti en 3,5-diCQ catalysée par une enzyme en une seule étape (Clifford *et al.*, 2017).

**La localisation cellulaire *in planta*** des pools de 3,5-diCQ pré- et post-infection devrait fournir de précieuses indications sur son mode d'action. Afin de confirmer l'échec de *M. persicae* dans la détection des éléments criblés, les trajets des stylets seront observés par microscopie et comparés entre le génotype sensible et résistant (Hewer *et al.*, 2011). Cette observation sera confrontée à l'analyse des contenus en composés phénoliques des pucerons et des tiges. La distribution tissulaire du 3,5-diCQ sera également analysée *in situ* par imagerie MALDI-MS, afin de mettre en évidence une éventuelle présence dans le phloème et à proximité des gaines des stylets (Klein *et al.*, 2015). L'hypothèse d'une accumulation apoplastique sera quant à elle testée par immunolocalisation du 3,5-diCQ sur des coupes d'apex pré- et post-infestation. **L'approche immunohistochimique** est très efficace pour localiser des



métabolites secondaires végétaux ; elle a été employée avec succès pour situer aux niveaux cellulaire et subcellulaire des polyphénols, des flavonoïdes ou encore la caféine (van Breda *et al.*, 2013).

**La recherche de gènes candidats** pour la synthèse et le transport éventuel du 3,5-diCQ s'appuiera sur l'analyse transcriptomique préalablement effectuée dans les deux génotypes avec et sans infestation. Le crible sera réalisé selon deux ou trois des critères suivants : (i) une surexpression du gène chez Rubira après infestation, (ii) la localisation du gène dans le cluster de *Rm2* et (iii) une annotation prévisionnelle comme gène de transport MATE ou ABC, ou activité enzymatique HQT ou C3'H. Les promoteurs des gènes candidats seront étudiés pour repérer de possibles éléments cis de régulation liés au stress, puis l'expression de ces gènes sera analysée de façon cinétique durant 48h d'infestation.

## Programme

### Dispositif expérimental, matériel et humain

Directeur de thèse : Raphaël Lugan (UAPV)

Co-directeur : David Roux (UAPV)

Co-encadrant : Jean-Luc Poëssel (INRA)

Technicienne : Marie-Noëlle Corre

Technicienne : Virginie Chareyron

La thèse se déroulera sur le campus Jean-Henri Fabre à Avignon. Les manipulations et mesures seront effectuées dans différentes infrastructures de l'UAPV et du centre INRA PACA :

- Cultures de *P. persica* et élevages de *M. persicae* : enceintes phytotroniques de l'unité GAFL (INRA)
- Analyses métabolomiques, GC-MS, LC-MS, MALDI-MS : Metaboscope (UAPV)
- Microscopie : plateforme de microscopie 3A (INRA) et plateau technique du laboratoire PFL (UAPV)
- qRT-PCR : plateforme GAFL (INRA)
- Séquençage, Genotoul (Toulouse)



	avr-mai	jun-juil	août-sept	Année 1			Année 2			Année 3					
	avr-mai	jun-juil	août-sept	oct-nov	dec-janv	fev-mar	avr-mai	jun-juil	août-sept	oct-nov	dec-janv	fev-mar	avr-mai	jun-juil	août-sept
<b>Cultures</b>							cinétique								
Bilan à 48h post infestation <b>RNaseq</b>				Analyse globale des données				Exploration ciblée des données				gènes candidats			
Production des données				Analyse de données				Recherche de pistes nouvelles				Analyses cinétiques multicibles (tissus et phloème)			
<b>Métabolomique</b>				Formation instruments					Localisation de CQ composition du phloème						
Developpements / production de données								Localisation métabolites / enzymes / ARNm in situ							
<b>MALDI-Imaging</b>															
Developpements															
<b>Immunofluo</b>															
Developpements															
				Analyse bibliographique							Valorisation Article 1			Valorisation Article 2	
											Valorisation thèse				



## Bibliographie

Adio AM, Casteel CL, De Vos M, Kim JH, Joshi V, Li B, Juárez C, Daron J, Kliebenstein DJ, Jander G (2011) Biosynthesis and Defensive Function of N $\delta$ -Acetylornithine, a Jasmonate-Induced Arabidopsis Metabolite[C][W]. *Plant Cell* 23: 3303–3318

Baggs E, Dagdas G, Krasileva KV (2017) NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR Identity. *Current Opinion in Plant Biology* 38: 59-67

Bass C, Puinean AM, Zimmer CT, Denholm I, Field LM, Foster SP, Gutbrod O, Nauen R, Slater R, Williamson MS (2014) The evolution of insecticide resistance in the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 51: 41-51.

Cheynier V, Comte G, Davies KM, Lattanzio V, Martens S (2013) Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry* 72: 1–20

Dogimont C, Chovelon V, Pauquet J, Boualem A, Bendahmane A (2014) The Vat locus encodes for a CC-NBS-LRR protein that confers resistance to *Aphis gossypii* infestation and *A. gossypii*-mediated virus resistance. *Plant J* 80: 993–1004

Garcia JA, Glasa M, Cambra M, Candresse T (2014) Plum pox virus and sharka: a model potyvirus and a major disease. *Molecular Plant Pathology* 15: 226-241

Hewer A, Becker A, Bel AJE van (2011) An aphid's Odyssey – the cortical quest for the vascular bundle. *Journal of Experimental Biology* 214: 3868–3879

Hwang J-U, Song W-Y, Hong D, Ko D, Yamaoka Y, Jang S, Yim S, Lee E, Khare D, Kim K, et al (2016) Plant ABC Transporters Enable Many Unique Aspects of a Terrestrial Plant's Lifestyle. *Molecular Plant* 9: 338–355

Jaouannet M, Morris JA, Hedley PE, Bos JIB (2015) Characterization of Arabidopsis Transcriptional Responses to Different Aphid Species Reveals Genes that Contribute to Host Susceptibility and Non-host Resistance. *PLoS Pathog.* doi: 10.1371/journal.ppat.1004918

Jia YX, Yuan Y, Zhang YC, Yang SH, Zhang XH (2015) Extreme expansion of NBS-encoding genes in Rosaceae. *Bmc Genetics* 16

Kanobe C, McCarville MT, O'Neal ME, Tylka GL, MacIntosh GC (2015) Soybean Aphid Infestation Induces Changes in Fatty Acid Metabolism in Soybean. *PLoS ONE* 10: e0145660

Karley AJ, Douglas AE, Parker WE (2002) Amino acid composition and nutritional quality of potato leaf phloem sap for aphids. *J Exp Biol* 205: 3009–3018

Klein AT, Yagnik GB, Hohenstein JD, Ji Z, Zi J, Reichert MD, MacIntosh GC, Yang B, Peters RJ, Vela J, et al (2015) Investigation of the Chemical Interface in the Soybean-Aphid and Rice-Bacteria Interactions Using MALDI-Mass Spectrometry Imaging. *Anal Chem* 87: 5294–5301

Kloth KJ, Wiegers GL, Busscher-Lange J, van Haarst JC, Kruijer W, Bouwmeester HJ, Dicke M, Jongsma MA (2016) AtWRKY22 promotes susceptibility to aphids and modulates salicylic acid and jasmonic acid signalling. *J Exp Bot* 67: 3383–3396



Lambert, P., Pascal, T., 2011. Mapping Rm2 gene conferring resistance to the green peach aphid (*Myzus persicae* Sulzer) in the peach cultivar “Rubira®.” *Tree Genet. Genomes*. <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0394-2>

Legrand G, Delporte M, Khelifi C, Harant A, Vuylsteker C, Mörchen M, Hance P, Hilbert J-L, Gagneul D (2016) Identification and Characterization of Five BAHD Acyltransferases Involved in Hydroxycinnamoyl Ester Metabolism in Chicory. *Front Plant Sci*. doi: 10.3389/fpls.2016.00741

Li X, Li K, Xie H, Xie Y, Li Y, Zhao X, Jiang X, Chen D (2018) Antioxidant and Cytoprotective Effects of the Di-O-Caffeoylquinic Acid Family: The Mechanism, Structure-Activity Relationship, and Conformational Effect. *Molecules*. doi: 10.3390/molecules23010222

Louis J, Shah J (2013) *Arabidopsis thaliana*—*Myzus persicae* interaction: shaping the understanding of plant defense against phloem-feeding aphids. *Front Plant Sci*. doi: 10.3389/fpls.2013.00213

Massonié G, Maison P (1982)b Peach resistance to *Myzus persicae* and to the transmission of the plum pox virus by this aphid. *Phytoparasitica* 10: 127-128

Massonié, G., Maison, P., Monet, R., Grasselly, C., 1982a. Résistance au puceron vert du pêcher, *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera Aphididae) chez *Prunus persica* (L.) Batsch et d'autres espèces de *Prunus*. *Agronomie* 2, 63–70.

Moglia A, Lanteri S, Comino C, Hill L, Knevitt D, Cagliero C, Rubiolo P, Bornemann S, Martin C (2014) Dual Catalytic Activity of Hydroxycinnamoyl-Coenzyme A Quinate Transferase from Tomato Allows It to Moonlight in the Synthesis of Both Mono- and Dicafeoylquinic Acids1[W][OPEN]. *Plant Physiol* 166: 1777–1787

MONDOLOT L, LA FISCA P, BUATOIS B, TALANSIER E, DE KOCHKO A, CAMPA C (2006) Evolution in Caffeoylquinic Acid Content and Histolocalization During *Coffea canephora* Leaf Development. *Ann Bot* 98: 33–40-

Monet, R., Massonié, G., 1994. Déterminisme génétique de la résistance au puceron vert (*Myzus persicae*) chez le pêcher. Résultats complémentaires. *Agronomie* 14, 177–182. <https://doi.org/10.1051/agro:19940304>

Moran PJ, Thompson GA (2001) Molecular Responses to Aphid Feeding in *Arabidopsis* in Relation to Plant Defense Pathways. *Plant Physiology* 125: 1074–1085

Peng Z, Miles PW (1991) Oxidases in the gut of an aphid, *Macrosiphum rosae* (L.) and their relation to dietary phenolics. *Journal of Insect Physiology* 37: 779–787

Palloix A, Ayme V, Moury B (2009) Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. *New Phytol* 183: 190–199

Poëssel JL, Corre MN, Kervella J, Lacroze JP, Sauge MH (2002) Increase in phenolic content in the resistant peach cultivar 'Rubira' infested by the green peach aphid, *Myzus persicae*. In IE Hadrami, ed, XXI International Conference on Polyphenols, Vol 1, Marrakech, Morocco, pp 131-132.

Poëssel JL, Sauge MH, Corre MN, Renaud C, Gaudillère M, Maucourt M, Deborde C, Dufour C, Loonis M, Lacroze JP, Pascal T, Moing A (2006) Metabolic profiling of shoot apices infested by the peach-potato aphid. *Metabolomics* 2: 288.

Rimbaud L, Dallot S, Gottwald T, Decroocq V, Jacquot E, Soubeyrand S, Thebaud G (2015) Sharka Epidemiology and Worldwide Management Strategies: Learning Lessons to Optimize Disease Control in Perennial Plants. In NK VanAlfen, ed, *Annual Review of Phytopathology*, Vol 53, Vol 53, pp 357-378



Santos AL dos, Chaves-Silva S, Yang L, Maia LGS, Chalfun-Júnior A, Sinharoy S, Zhao J, Benedito VA (2017) Global analysis of the MATE gene family of metabolite transporters in tomato. *BMC Plant Biol.* doi: 10.1186/s12870-017-1115-2

Sauge, M.-H., Kervella, J., Pascal, T., 1998a. Settling behaviour and reproductive potential of the green peach aphid *Myzus persicae* on peach varieties and a related wild *Prunus*. *Entomol. Exp. Appl.* 89, 233–242. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1998.00404.x>

Sauge, M.-H., Kervella, J., Rahbé, Y., 1998b. Probing behaviour of the green peach aphid *Myzus persicae* on resistant *Prunus* genotypes. *Entomol. Exp. Appl.* 89, 223–232. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1998.00403.x>

Sauge, M.-H., Lacroze, J.-P., Poëssel, J.-L., Pascal, T., Kervella, J., 2002. Induced resistance by *Myzus persicae* in the peach cultivar “Rubira.” *Entomol. Exp. Appl.* 102, 29–37. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2002.00922.x>

Sauge, M.-H., Poëssel, J.-L., Guillemaud, T., Lapchin, L., 2011. Resistance induction and herbivore virulence in the interaction between *Myzus persicae* (Sulzer) and a major aphid resistance gene (Rm2) from peach. *Arthropod-Plant Interact.* 5, 369–377. <https://doi.org/10.1007/s11829-011-9141-8>

Staudt, M., Jackson, B., El-Aouni, H., Buatois, B., Lacroze, J.-P., Poëssel, J.-L., Sauge, M.-H., 2010. Volatile organic compound emissions induced by the aphid *Myzus persicae* differ among resistant and susceptible peach cultivars and a wild relative. *Tree Physiol.* 30, 1320–1334. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq072>

Stewart SA, Hodge S, Bennett M, Mansfield JW, Powell G (2016) Aphid induction of phytohormones in *Medicago truncatula* is dependent upon time post-infestation, aphid density and the genotypes of both plant and insect. *Arthropod-Plant Interactions* 10: 41–53

Tohge T, Ramos MS, Nunes-Nesi A, Mutwil M, Giavalisco P, Steinhauser D, Schellenberg M, Willmitzer L, Persson S, Martinoia E, et al (2011) Toward the Storage Metabolome: Profiling the Barley Vacuole1[W][OA]. *Plant Physiol* 157: 1469–1482

Urbanska A, Tjallingii WF, Dixon AFG, Leszczynski B (1998) Phenol oxidising enzymes in the grain aphid’s saliva. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 86: 197–203

The International Peach Genome Initiative, Verde I, Abbott AG, Scalabrin S, Jung S, Shu S, Marroni F, Zhebentyayeva T, Dettori MT, Grimwood J, et al (2013) The high-quality draft genome of peach (*Prunus persica*) identifies unique patterns of genetic diversity, domestication and genome evolution. *Nature Genetics* 45: 487–494

van Breda SV, van der Merwe CF, Robbertse H, Apostolides Z (2013) Immunohistochemical localization of caffeine in young *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze (tea) leaves. *Planta* 237: 849–858

Vogel-Adghough D, Stahl E, Návarová H, Zeier J (2013) Pipecolic acid enhances resistance to bacterial infection and primes salicylic acid and nicotine accumulation in tobacco. *Plant Signal Behav.* doi: 10.4161/psb.26366

Will T, Steckbauer K, Hardt M, Bel AJE van (2012) Aphid Gel Saliva: Sheath Structure, Protein Composition and Secretory Dependence on Stylet-Tip Milieu. *PLOS ONE* 7: e46903