



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **25 avril 2019**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **CABRE Lisa**

Titre de la thèse : « *Identification et étude de promoteurs induits par la rouille asiatique du soja. Application à un système de mort cellulaire artificielle* »



Résumé

Phakopsora pachyrhizi Syd.& P.Syd. est le plus important fléau du soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Introduit au Brésil dans les années 2000, ce champignon s'est rapidement répandu sur les deux continents Américains. Seule l'utilisation de fongicides associée à des pratiques culturales strictes permet de maintenir le niveau de production. L'utilisation répétitive de ces fongicides ainsi que la plasticité génétique de ce champignon ont rapidement entraîné une diminution d'efficacité de certaines molécules. Par ailleurs, la plupart des résistances verticales identifiées dans les ressources naturelles du soja restent inefficaces contre certains isolats du champignon. La compréhension des mécanismes de l'immunité des plantes permet de proposer des solutions biotechnologiques pour le contrôle des maladies.

L'utilisation antérieure du système barnase/barstar induisant une mort cellulaire artificielle, a permis de générer des pommes de terre résistantes à *Phytophthora infestans*. Cette technologie est basée sur l'expression de la barnase, une ribonucléase toxique pour les cellules et la barstar, un inhibiteur de la barnase. Il a été proposé d'évaluer ce système pour le contrôle de *P. pachyrhizi*. Le point critique de cette approche est de trouver le bon rapport de l'expression des gènes barnase/barstar. Pour ce faire la barnase sera placée sous contrôle d'un promoteur induit par le pathogène permettant une régulation spatiotemporelle.

La recherche de tels promoteurs a été effectuée en utilisant des données transcriptomiques et bibliographiques. Des sojas stables exprimant les différentes fusions promoteur:GFP ont été créées afin d'étudier l'expression spatiotemporelle de ces promoteurs en présence du champignon. Les promoteurs *pGmCHIT1* et *pgst1* contrôlant respectivement l'expression d'une chitinase et d'une glutathione-S-transférase ont été identifiés comme induit par le pathogène. L'impact de différents stress sur ces deux promoteurs a été évalué.

Les constructions génétiques « barnase/barstar » comprenant les différentes combinaisons des promoteurs ont été générées. *Nicotiana benthamiana* a été utilisé pour exprimer transitoirement les construits et évaluer leur phytotoxicité en absence du pathogène. Un seul construit contenant le promoteur *pgst1* s'est avéré non phytotoxique. Il a été transféré avec succès dans le soja. Ces sojas n'ont pas montré de gain de tolérance à la rouille. Une proposition d'amélioration du système barnase/barstar est discutée afin de mieux cerner les possibilités et les limites de cette technologie pour le contrôle de la rouille du soja.