

**Ecole doctorale Environnements-Santé**  
**Dossier de projet de thèse « Contrat doctoral Etablissements »**  
**ANNEE 2025**

**1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse<sup>1</sup> (1 page maximum) :**

Directeur de thèse HDR :

Nom : POINSSOT

Prénom : Benoit

Section CNU : 64

*Grade : Professeur des Universités*

*HDR : Date de soutenance 21/12/2015      Discipline : Biochimie Biologie Moléculaire*

***l'HDR devra être soutenue, ou sa soutenance autorisée, au moment du dépôt du présent projet.***

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) :

UMR Agroécologie 1347

Pôle IPM, 17 Rue Sully, 21000 Dijon

benoit.poinssot@inra.fr

03.80.69.34.58

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) :

UMR Agroécologie 1347

Institut Agro Dijon, INRAE, Université Bourgogne Europe

Directeur : MARTIN-LAURENT Fabrice

Co-directeur de thèse éventuel :

Nom : GAYRAL

Prénom : Mathieu

Section CNU : 66

*Grade : Maitre de Conférences*

*HDR : non  ; oui  Date de soutenance..... Discipline : .....*

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) :

UMR Agroécologie 1347

Pôle IPM, 17 Rue Sully, 21000 Dijon

mathieu.gayral@inrae.fr

03.80.69.32.48

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) :

UMR Agroécologie 1347

Institut Agro Dijon, INRAE, Université Bourgogne Europe

Directeur : MARTIN-LAURENT Fabrice

**2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :**

<sup>1</sup> ATTENTION : selon l'article 16 de l'arrêté du 25 mai 2016, le total d'encadrants ne peut pas dépasser 2, sauf si l'un des encadrants appartient au monde socio-économique, qui peut venir en sus, ou en cas de co-tutelle; Le décompte des co-encadrements se fera au prorata du nombre d'encadrants : 1 pour 1 encadrant, ½ pour deux encadrants.

- **nom et label de l'unité de recherche** (ainsi que l'équipe interne s'il y a lieu)

UMR Agroécologie 1347

Institut Agro Dijon, INRAE, Université de Bourgogne Europe

Pôle IPM, groupes "Immunité de la vigne"

- **localisation**

INRAE Dijon Bourgogne-Franche-Comté

17 Rue Sully

21000 Dijon

- **nom du directeur de thèse et du co-directeur**

Benoit POINSSOT (Directeur)

Mathieu GAYRAL (Co-Directeur)

- **adresse courriel du contact scientifique**

benoit.poinssot@inrae.fr ou benoit.poinssot@ube.fr

mathieu.gayral@inrae.fr ou mathieu.gayral@ube.fr

- **titre du projet**

Étude des deux voies de signalisation de l'UPR (Unfolded Protein Response) dans les interactions plantes microorganismes

- **description du projet** (2 pages maximum)

## 1. Contexte de la thèse

Les plantes sont soumises à de nombreux stress biotiques et abiotiques qui entraînent une baisse de la productivité. De ce fait, l'utilisation de traitements phytosanitaires et d'engrais synthétiques est largement répandue pour maintenir le rendement et la rentabilité des systèmes agricoles. Les risques pour l'environnement et la santé humaine liés à ces pratiques ne sont plus à démontrer et l'agriculture doit évoluer vers de nouvelles méthodes alternatives. Dans un contexte agroécologique, différentes voies d'amélioration culturales sont envisagées comme i. l'amélioration variétale en vue d'obtenir des plantes plus résistantes ou ii. l'utilisation de symbiose mycorhizienne pour améliorer la résilience des plantes.

La mise en place de toutes ces améliorations culturales passe par une meilleure connaissance des voies de signalisation associées à la réponse des plantes aux stress. Il est aujourd'hui acquis que les voies de signalisation du stress du réticulum endoplasmique (RE) jouent un rôle important dans la réponse à différents stress abiotiques tel que les stress hydriques ou de fortes variations de température, mais aussi dans la régulation des interactions avec de nombreux microorganismes. Le stress du RE se caractérise par l'accumulation de protéines mal-/non-repliées dans la lumière du RE. Face à ce stress, la cellule active deux voies de signalisation appelée UPR (Unfolded Protein Response) afin de rétablir l'homéostasie cellulaire. Chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*, la signalisation UPR est portée par les facteurs de transcriptions bZIP17 et bZIP28 d'un côté et la kinase transmembranaire IRE1 associée au facteur de transcription bZIP60 de l'autre (Gayral *et al.*, 2020). Les deux voies de l'UPR induisent différentes réactions pro-adaptatives qui visent d'une part à augmenter les capacités de repliement des protéines et du système de contrôle qualité du RE (ERQC), ainsi que les capacités de dégradation des protéines mal-repliées par la réticulophagie et le système de dégradation protéine associée au RE (ERAD). Et d'autre part à réduire le travail du RE en dégradant les ARNm qui codent pour des protéines

empruntant la voie de sécrétion grâce à un mécanisme appelé regulated IRE1-dependent decay (RIDDD).

Plusieurs travaux ont démontré que les voies UPR sont activées lors d'une maladie cryptogamique et qu'elles participent à l'immunité, mais leurs modes d'action restent méconnus. Il est tout de même intéressant de noter que chez *A. thaliana*, le facteur de sensibilité RTP1 (Resistance to *Phytophthora parasitica* 1), est un régulateur négatif des voies UPR (Qiang *et al.*, 2021). De plus, des travaux menés au sein du pôle IPM (Interactions Plantes Micro-organismes) de l'UMR Agroécologie montrent que l'inactivation de AtbZIP60 entraîne une forte augmentation de la sensibilité face au champignon pathogène *Botrytis cinerea* alors que celle de AtbZIP17 entraîne une meilleure résistance à ce bioagresseur (Blanchard *et al.*, 2024). Concernant les interactions avec les champignons mycorrhiziens à arbuscule, le rôle de la signalisation UPR n'a jamais été étudié dans ce contexte alors que la mise en place de la symbiose mycorrhizienne à arbuscule (SMA) nécessite un contournement des réactions de défenses et une réorganisation profonde de la cellule qui entraîne probablement un déséquilibre de l'homéostasie protéique au sein du RE. Jusqu'à présent l'étude du contournement des réactions de défenses s'est principalement concentrée sur la perception par les plantes de certains motifs moléculaires appelés Microbe-Associated Molecular Pattern (MAMP), mais il a récemment été montré que la voie UPR est ciblée par l'oomycète pathogène *Phytophthora capsici* pour contourner les défenses de la plante (Zhou *et al.*, 2021).

Ces résultats suggèrent le rôle central de l'UPR dans la gestion des interactions plantes microorganismes. Ainsi, il apparaît qu'une meilleure connaissance des voies de signalisation de l'UPR permettrait d'améliorer la résistance des plantes face aux pathogènes. Néanmoins, il est nécessaire d'étudier le rôle de l'UPR conjointement dans les interactions pathogènes et mutualistes afin de ne pas induire d'effet délétère.

## 2. Objectif de la thèse

Les travaux préliminaires réalisés au laboratoire nous ont permis d'identifier et de débiter l'édition génomique des gènes impliqués dans l'UPR chez la vigne (*Vitis vinifera*) et chez la plante modèle *Marchantia paleacea*. *M. paleacea* est une bryophyte avec un petit génome présentant peu de duplication et dont l'édition génomique est rapide. De plus, cette plante modèle à l'avantage d'être sensible à de nombreux agents pathogènes et de pouvoir réaliser des SMA.

Le premier objectif de la thèse est d'étudier le rôle de l'UPR chez la vigne et chez marchantia lors des interactions plantes microorganismes pathogènes et mutualistes. Pour ce faire, les vignes et les marchantias éditées (Knock-Out) dans les gènes impliqués dans la signalisation UPR vont être infectées par plusieurs agents pathogènes. La sensibilité/résistance des mutants sera évaluée tout comme l'expression des gènes impliqués dans les différentes voies de défense chez les plantes. Les mutants seront aussi mycorhizés et la mise en place de la SMA sera évaluée par des approches de microscopie et l'expression de gènes orthologues de marqueurs de symbiose préalablement identifiés chez d'autres espèces végétales sera testée.

Le second objectif est d'étudier le rôle de l'activité pro-adaptative de l'UPR dans les IPM. Pour ce faire, les activités de l'ERQC, de l'ERAD, ainsi que la réticulophagie ou l'impact du RIDDD sur la production des protéines PR seront étudiés par différentes approches (RTq-PCR, microscopie, Western Blot, mesure d'activité enzymatique) à la fois chez les plantes sauvages et les mutants suite l'infection par *B. cinerea* ou la SMA.

Enfin, le rôle de la ou les activités pro-adaptatives les plus impliquées dans les IPM seront validées fonctionnellement par édition génomique CRISPR/Cas9 chez marchantia. Pour ce faire, des gènes clefs impliqués dans les activités pro-adaptatives identifiées seront édités et les plantes seront soumises à des infections par différents pathogènes et à la SMA.

Ce projet de thèse permettra une meilleure compréhension du rôle de l'UPR dans les IPM. Ce qui permettra à l'avenir d'étudier leur biodiversité génétique afin d'orienter les programmes de sélection variétale visant à obtenir des plantes plus résistantes aux stress biotiques et abiotiques pour diminuer l'usage des produits phytosanitaires et favoriser le développement d'une agriculture plus durable.

### 3. Références

- C. Blanchard, S. Aimé, A. Ducloy, S. Hichami, M. Azzopardi, J-L. Cacas, O. Lamotte. The IRE1-bZIP60 branch of Unfolded Protein Response is required for Arabidopsis immune response to *Botrytis cinerea*. 2024. fahal-04795483. BioRxiv DOI : 10.1101/2023.10.18.562849.
- M. Gayral, O.A. Gaguancela, E. Vasquez, F.J. Florez, M.B Dickman, and J. Verchot. Multiple ER-to-nucleus stress signaling pathways are activated during *Plantago asiatica* mosaic virus and Turnip mosaic virus infection in *Arabidopsis thaliana*. 2020. The Plant Journal. DOI: 10.1111/tpj.14798
- X. Qiang, X. Liu, X. Wang, Q. Zheng, L. Kang, X. Gao, Y. Wei, W. Wu, H. Zhao, W. Shan. Susceptibility factor RTP1 negatively regulates *Phytophthora parasitica* resistance via modulating UPR regulators bZIP60 and bZIP28. 2021. Plant Physiology, doi:10.1093/plphys/kiab126
- Y. Zhou, K. Y., M. Cheng, Y. Cheng, Y. Li, G. Ai, T. Bai, R. Xu, W. Duan, H. Peng, X. Li, A. Xia, Y. Wang, M. Jing, D. Dou, M.B. Dickman, Double-faced role of Bcl-2-associated athanogene 7 in plant-*Phytophthora* interaction. 2021. Journal of Experimental Botany, doi.org/10.1093/jxb/erab252

#### - Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat)

Les financements obtenus par toutes les équipes sont mutualisés au sein du pôle IPM de l'UMR Agroécologie ce qui permet d'assurer un environnement favorable à nos doctorants. Benoît Poinssot coordonne actuellement 3 projets ayant des financements acquis au sein de l'UMR agroécologie : un projet ANR Ecophyto Maturation « Biospraytech » (2023-2026 ; 238 k€), une thèse CIFRE avec la société Elicit Plant (2023-2026, Environnement de 120 k€) et un projet de la Graduate School TRANSBIO « CRISPEDITING BFC» (2025-2027, 192.5 k€). Sur la thématique du projet de thèse proposé, Mathieu Gayral a obtenu un financement ANER auprès de la Région Bourgogne-Franche-Comté (subvention 50 k€ ; UPR info Vigne, 2023-2026).

#### - connaissances et compétences requises

Biologie moléculaire, biologie cellulaire, physiologie végétale, biochimie, interactions plantes/pathogènes.

#### Résumé en français (limité chacun à 1800 caractères)

Dans le contexte de réduction des produits phytosanitaires en agriculture, l'amélioration des connaissances sur l'immunité et la symbiose des plantes est un enjeu important dans l'amélioration variétale et la recherche de nouveaux modes de protection des cultures. Ce projet de thèse vise à améliorer nos connaissances sur rôle de la réponse au stress du réticulum endoplasmique (Unfolded Protein response; UPR) dans l'immunité des plantes. Le premier objectif de la thèse est de caractériser le rôle des deux voies de signalisation de l'UPR dans les interactions avec des microorganismes pathogène et mutualiste. En effet, même si le rôle de l'UPR dans l'immunité des plantes n'est plus à démontrer, notamment via les facteurs de transcriptions bZIP17, bZIP28 et bZIP60, nos connaissances restent limitées quant à leurs fonctions exactes dans les interactions plante-

microorganisme (IPM). Le second objectif de la thèse s'intéresse aux activités pro-adaptatives de l'UPR, tel que le contrôle qualité du réticulum endoplasmique (ERQC), la dégradation protéique associée au réticulum endoplasmique (ERAD) ou la réticulophagie, et permettra d'étudier leurs impacts sur les IPM. Finalement, une approche de génomique fonctionnelle par édition génomique CRISPR/Cas9 chez *Marchantia paleacea* permettra de valider le rôle de la signalisation pro-adaptative de l'UPR dans les IPM.

### **Résumé en anglais**

In the actual situation of reducing phytosanitary treatment in agriculture, improving knowledge about plant immunity and symbiosis is a crucial issue in varietal improvement and the search for new crop protection methods. This thesis project aims to enhance our understanding of the role of the unfolded protein response (UPR) in plant immunity. The first objective of the thesis is to characterize the role of the two UPR signaling pathways in interactions with pathogen and mutualistic microorganisms. Although the role of UPR in plant immunity is well-established, particularly through the transcription factors bZIP17, bZIP28, and bZIP60, our knowledge remains limited regarding their exact functions in plant-microorganism interactions. The second objective of the thesis focuses on the pro-adaptive activities of UPR, such as endoplasmic reticulum quality control (ERQC), endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD), or reticulophagy, and will study their impacts on plant-microorganism interactions. Finally, a functional genomics approach using CRISPR/Cas9 genome editing in *Marchantia paleacea* will validate the role of pro-adaptive UPR signaling in plant-microorganism interactions.

**Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous (2 choix possibles maximum – ne pas modifier les intitulés : ils sont imposés par certains sites web) :**

Biochimie

Biologie

**Mots clés :** Stress du réticulum endoplasmique, Unfolded Protein response (UPR), interactions plante-microorganisme (IPM).