

VÉGÉPHYL – 14^{ème} CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
2, 3 et 4 DÉCEMBRE 2025 – Angers

**PANGENOCUB : DU PANGENOME DE *PLASMODIOPHORA BRASSICAE* AU DEVELOPPEMENT DE
MARQUEURS MOLECULAIRES DIAGNOSTICS**

C. JESTIN⁽¹⁾, C. LARIAGON⁽²⁾, G. DENIOT⁽²⁾, I. LOUBET⁽¹⁾, C. GERMAIN⁽¹⁾, I. DERROUCH, C. FALENTIN⁽²⁾,
K. GAZENGEL⁽²⁾, F. LEGEAI⁽²⁾, S. ROBIN⁽²⁾, S. DAVAL⁽²⁾, D. HINSINGER⁽³⁾, P. FAIVRE-RAMPANT⁽³⁾, M.
ROUSSEAU-GUEUTIN⁽²⁾, A. GRAVOT⁽²⁾, M. MANZANARES-DAULEUX⁽³⁾, M. JUBAULT⁽³⁾

⁽¹⁾ Terres Inovia, domaine de la motte, 35650 Le Rheu, France

⁽²⁾ IGEPP Institut Agro, INRAE, Université de Rennes, 35650 Le Rheu, France

⁽³⁾ EPGV INRAE CEA - Institut de biologie François Jacob Site d'Evry - Bat G1 2 rue Gaston Crémieux
91057 - Evry Cedex France

RÉSUMÉ

La hernie des crucifères, causée par le protiste tellurique *Plasmodiophora brassicae*, est une maladie racinaire majeure des Brassicacées en France, dont le colza et le chou. Ces dernières années, le changement climatique semble offrir des conditions de plus en plus favorables au développement de cette maladie. Le levier génétique constitue la voie la plus efficace pour contrôler cette maladie. L'efficacité des gènes de résistance dans les variétés commercialisées dépend du ou des pathotypes de *P. brassicae* présents sur les parcelles des agriculteurs. Or la caractérisation des pathotypes est basée actuellement uniquement sur l'utilisation d'un set d'hôtes différentiels en conditions contrôlées et s'avère trop coûteuse et fastidieuse pour un diagnostic en routine. Le projet PANGENOCUB (2025-2026, Plant2Pro®) propose d'approfondir nos connaissances sur le génome de *P. brassicae* et sa diversité, avec la constitution et l'analyse de son pangénome. Ce travail permettra l'identification de variations génomiques et génétiques entre les principaux pathotypes présents sur le territoire français et le développement d'un set de marqueurs moléculaires pour faciliter la caractérisation des pathotypes de hernie prédominants sur le territoire français. Ces résultats faciliteront la préconisation aux agriculteurs de variétés résistantes adaptées au contexte de leur parcelle et apporteront des outils pour mieux appréhender les mécanismes d'évolution de l'agent pathogène.

Mots-clés : hernie des crucifères, *Brassica napus*, *B. oleracea*, pathotype, pangénome, marqueurs

ABSTRACT

Clubroot, caused by the soil borne protist *Plasmodiophora brassicae*, is a major root disease of Brassicaceae in France, including rapeseed and cabbage. In recent years, climate change seems to have created increasingly favorable conditions for the development of this disease. Genetic resistance is the most effective way of controlling this disease. The effectiveness of resistance genes in commercial varieties depends on the *P. brassicae* pathotype(s) present in farmers' fields. However, pathotype characterization is currently based solely on the use of a set of differential hosts under controlled conditions, and is proving too costly and time-consuming for routine diagnostic. The PANGENOCUB project (2025-2026, Plant2Pro®) aims to improve our knowledge of the *P. brassicae* genome and its diversity, through the construction and analysis of its pang genome. This work will enable the identification of genomic and genetic variations between the main pathotypes present in France, and the development of a set of molecular markers to facilitate the characterization of predominant clubroot pathotypes in France. These results will make it easier to recommend resistant varieties to farmers, adapted to the context of their plot, and provide new tools to better understand the pathogen's evolutionary mechanisms.

Keywords: clubroot, *Brassica napus*, *B. oleracea*, pathotype, pang genome, molecular markers

Introduction

La hernie des crucifères, causée par *Plasmodiophora brassicae*, protiste tellurique du groupe des *Rhizaria*, est une maladie racinaire majeure des Brassicacées (Saharan et al., 2021; Zamani-Noor et al., 2022), dont le colza et le chou. En Europe, cette maladie constitue une problématique importante, en particulier au Royaume-Uni, dans le nord de l'Allemagne, en Pologne, en République Tchèque, en Suède et en France (Diederichsen et al., 2009; Saharan et al., 2021; Zamani-Noor et al., 2022). Sa nuisibilité pour le colza va de la perte de quelques quintaux jusqu'au retournement complet de la parcelle, dans le cas d'une attaque précoce et intense (Jestin and Orgeur, 2014). Depuis ces dernières années, les évolutions environnementales dues au changement climatique semblent offrir des conditions de plus en plus favorables au développement de cette maladie, en particulier une fréquence plus importante de la maladie sur des aires déjà connues, comme l'attestent les retours de plus en plus fréquents des acteurs du terrain, mettant en péril la culture des Brassicacées dont le colza. En l'absence de produits phytosanitaires efficaces, différents leviers existent pour lutter contre *P. brassicae*, dont le chaulage, l'allongement des rotations et un choix variétal adapté. Ce dernier constitue la voie la plus efficace pour contrôler cette maladie. Des résistances mono, oligo et polygéniques, pathotype-spécifiques ou non, ont été identifiées chez les différentes Brassicacées (Hasan et al., 2021). Cependant l'exploitation de ces résistances requiert une connaissance fine de la diversité des pathotypes, présente aussi bien dans les parcelles que dans les agrosystèmes, ainsi que de leurs facteurs de virulence et de leur évolution.

P. brassicae présente une très grande diversité génétique (Manzanares-Dauleux et al., 2001) se traduisant par une diversité du pouvoir pathogène (agressivité et virulence) des isolats. L'étendue et l'origine de cette diversité restent encore mal connues en comparaison à d'autres agents pathogènes de grandes cultures. Peu de connaissances sont actuellement disponibles sur les variations génétiques sous-jacentes aux pathotypes alors qu'elles permettraient une gestion durable et optimisée des résistances. L'évaluation de la diversité du pouvoir pathogène ne peut être évaluée qu'en confrontant les populations de *P. brassicae* à un set d'hôtes différentiels (biotests). En France, la caractérisation des isolats de *P. brassicae* est réalisée sur la gamme d'hôtes différentiels de Somé et al. (1996) et a permis en 2012 la détection de trois pathotypes majoritaires (P1, P2 et P3) en France. Les pathotypes P1, P2 et P3 ont été observés dans 91% des 117 parcelles françaises étudiées infectées par la hernie, les pathotypes P4, P5 et P6 restant minoritaires en France (Orgeur et al., 2016). En Europe, les pathotypes P1 et P3 sont les plus répandus en Allemagne, Pologne et Suède (Zamani-Noor et al., 2022). L'utilisation récurrente en Europe de la variété de colza Mendel, portant une résistance sous contrôle monogénique notamment aux pathotypes P1 et P2, a conduit au contournement de sa résistance (Diederichsen et al., 2006; Orgeur et al., 2016). Les nouveaux isolats virulents émergents en Europe capables de contourner la résistance à la hernie du cultivar "Mendel", nommées P1* et P2*, ont été retrouvés sur 41% des parcelles échantillonnées en France (Orgeur et al., 2016). Aujourd'hui si davantage de variétés de colza présentant des résistances à la hernie sont proposées sur le marché, aucune de ces variétés ne possède une résistance face aux pathotypes P1* et P2*.

Connaître l'étendue de la diversité génétique et le potentiel évolutif des populations de *P. brassicae* est nécessaire pour identifier les facteurs génétiques responsables de sa pathogénicité et pour comprendre les processus de dynamique et de co-évolution entre les cultures de Brassica et l'agent pathogène. Au-delà des connaissances fondamentales qui permettront à terme de mieux contrôler cette maladie, une caractérisation rapide et fiable des pathotypes présents au sein de chaque territoire permettrait la mise en place d'une gestion raisonnée, efficace et plus durable des facteurs de résistance, avec un développement (par les obtenteurs) et un déploiement (par les agriculteurs) de différents types de résistance (qualitative et quantitative, intervenant à différents stades de la maladie) adaptés aux pathotypes présents sur leurs parcelles. Un biotest proposé par le GEVES (Groupe d'Etude et de Contrôle des Variétés Et des Semences) permet d'avoir accès à cette information, mais le coût, la durée et les infrastructures associées sont un frein à la fois pour l'agriculteur, les obtenteurs et les organismes de recherche et de développement pour prendre en compte la diversité de l'agent

pathogène dans le management du levier génétique. Le développement de marqueurs moléculaires spécifiques des principaux pathotypes présents sur le territoire européen serait une alternative rapide et peu coûteuse aux biotests. Au niveau international, un petit nombre de marqueurs moléculaires permettent actuellement de distinguer 3 pathotypes prédominants de *P. brassicae* en Chine (Zheng et al., 2018, 2019) et un des nouveaux pathotypes virulents au Canada (Zhou et al., 2018), mais aucun de ces marqueurs ne représente la diversité des pathotypes présents en Europe. Le développement de marqueurs moléculaires spécifiques des différents pathotypes français voire européens nécessite néanmoins au préalable une meilleure connaissance du génome de *P. brassicae* et de la diversité génétique et génomique existant au sein des isolats présents sur ces territoires.

Ce projet a ainsi pour objectif principal d'améliorer nos connaissances sur le génome de *P. brassicae* et sa diversité, avec la constitution et l'analyse de son pangénome, *i.e.* l'identification du génome noyau (ou core-genome : gènes indispensables au fonctionnement de l'agent pathogène et présents dans tous les isolats) et du génome accessoire (ou accessory genome : gènes qui varient entre les isolats) et de leur niveau et type de polymorphisme (Tettelin et al., 2005). Quatorze isolats monospores, développés précédemment par le GEVES, l'IGEPP (INRAE) et l'université de Berlin, d'origine géographique et de pathotypes variés (Tableau I), ont été sélectionnés pour ce projet. Après multiplication des isolats, leur pouvoir pathogène sera caractérisé à partir d'un set élargi d'hôtes différentiels. Le pangénome de *P. brassicae* sera ensuite établi à partir du séquençage en longues lectures de l'ADN de ces 14 isolats monospores, complété d'un séquençage ADN en courtes lectures pour améliorer l'assemblage et la correction d'erreurs au niveau nucléotidique et du séquençage de transcriptomes pour faciliter l'annotation fonctionnelle. Les variations génétiques identifiées entre les différents isolats serviront de base pour la définition de marqueurs spécifiques si possible de chacun des pathotypes étudiés au cours du projet. Ces connaissances sont les premières bases indispensables vers l'identification des facteurs de virulence de *P. brassicae* et des variations génétiques qui leurs sont associées et pour aborder les questions majeures concernant la dynamique d'interaction entre les plantes hôte et l'agent pathogène. Ce travail devrait permettre l'identification de variations génomiques et génétiques entre les principaux pathotypes présents sur le territoire français et d'initier le développement de marqueurs pathotype-spécifiques utilisables par la filière.

Matériel et méthodes

Matériel parasitaire

Quatorze isolats monospores d'origine française ou européenne ont été sélectionnés sur la base de leur région géographique d'origine et de leur pathotype (**Tableau I**). Les isolats monospores P1R2E168, P1*R3E172, P2*R2E23, P1R2E41, P3R3E95, P2*R1E5, 24-16 et P3R6E82 ont été développés par le GEVES dans le projet CASDAR OPTIPLASM (2018-2022) (Orgeur et al., 2022) à partir d'isolats population prélevés dans 4 régions françaises (Orgeur et al., 2016). Les isolats Ms6, K92-16 et Pb137-522 ont été développés par l'IGEPP à partir d'isolats population prélevés en Bretagne (France) (Manzanares-Dauleux et al., 2001). Les isolats eH, e2 et e3 ont été développés et gracieusement fournis par J. Siemens et E. Diederichsen (Freie Universität Berlin) (Fähling et al., 2003).

Tableau I: Caractéristiques des isolats monospores sélectionnés pour la constitution du pangénome de *P. brassicae*

(Characteristics of single-spore isolates selected for the construction of the *P. brassicae* Pangenome)

Nom	Pathotype(1)	Origine géographique	Hôte d'origine	Laboratoire d'origine	Référence
P1R2E168	1	Auvergne (France)	Colza	GEVES	Orgeur et al., 2022

Ms6	1	Côtes d'Armor (France)	Colza	IGEPP	Manzanares-Dauleux et al., 2001
eH	1	Allemagne	Navet	Freie Universität Berlin	Fähling et al., 2003
e2	1	Allemagne	Navet	Freie Universität Berlin	Fähling et al., 2003
e3	1	Allemagne	Navet	Freie Universität Berlin	Fähling et al., 2003
P1*R3E172	1*	Centre (France)	Colza	GEVES	Orgeur et al., 2022
P2*R2E23	1*	Lorraine (France)	Colza	GEVES	Orgeur et al., 2022
P1R2E41	2	Auvergne (France)	Colza	GEVES	Orgeur et al., 2022
P3R3E95	2*	Franche-Comté (France)	Colza	GEVES	Orgeur et al., 2022
P2*R1E5	2*	Lorraine (France)	Colza	GEVES	Orgeur et al., 2022
24-16	3	Franche-Comté (France)	Colza	GEVES	Orgeur et al., 2022
P3R6E82	3	Franche-Comté (France)	Colza	GEVES	Orgeur et al., 2022
K92-16	4	Finistère (France)	Chou-fleur	IGEPP	Manzanares-Dauleux et al., 2001
Pb137-522	7	Finistère (France)	Chou-fleur	IGEPP	Manzanares-Dauleux et al., 2001

(1) établi d'après la gamme d'hôtes différentiels de Somé et al. (1996) à laquelle a été ajouté le génotype de colza 'Mendel'. Un * signifie que le pathotype a la capacité d'infecter le génotype 'Mendel'.

Gamme d'hôtes différentiels

Le génotype *B. rapa* ssp. *pekinensis* cv 'Granaat' (chou chinois, ECD5), présentant une forte sensibilité à l'ensemble des isolats de *P. brassicae*, a été utilisé pour multiplier les différents isolats et obtenir le matériel biologique pour les extractions d'ADN et d'ARN. Ce génotype a été systématiquement ajouté à chaque test pathologique, son fort niveau d'infection permettant de valider l'inoculum et les conditions de culture propices au développement de la maladie. La caractérisation du pathotype des isolats de *P. brassicae* a été réalisée en utilisant les gammes d'hôtes différentiels de Buczacki et al. (1975) et de Somé et al. (1996) (**Tableau II**) auxquelles a été ajoutée la variété de colza Mendel.

Tableau II : Gammes d'hôtes différentiels pour caractériser le pouvoir pathogène de *P. brassicae*

(Differential host for pathotype characterization of *P. brassicae*)

Gamme d'hôtes	Nom	Espèce	Sous-espèce	Cultivar
European Clubroot Differential (ECD* ; Buczacki et al., 1975)	ECD1	<i>Brassica rapa</i>	<i>rapifera</i>	cv. Granaat
	ECD2		<i>rapifera</i>	
	ECD3		<i>rapifera</i>	
	ECD4		<i>rapifera</i>	
	ECD5		<i>pekinensis</i>	

	ECD6		<i>oleifera</i>	cv. Nevin
	ECD7		<i>napus</i>	cv. Giant Rape
	ECD8	<i>Brassica napus</i>	<i>napus</i>	cv. Giant Rape selection
	ECD9		<i>napus</i>	cv. New Zealand
	ECD10		<i>napobrassica</i>	cv. Wilhelmsburger
	ECD11		<i>capitata</i>	cv. Badger Shipper
	ECD12		<i>capitata</i>	cv. Bindsachsener
	ECD13	<i>Brassica oleracea</i>	<i>capitata</i>	cv. Jersey Queen
	ECD14		<i>capitata</i>	cv. Septa
	ECD15		<i>acephala</i>	cv. Verheul
Somé <i>et al.</i> (1996)	ECD6		<i>oleifera</i>	cv. Nevin
	ECD10	<i>Brassica napus</i>	<i>napobrassica</i>	cv. Wilhelmsburger
	Brutor		<i>oleifera</i>	

*ECD : European clubroot differential

Conditions de culture

La multiplication des isolats sur *B. rapa* ssp. *pekinensis* cv 'Granaat' (chou chinois, ECD5) et la caractérisation des pathotypes *via* la gamme d'hôtes différentiels ont été réalisés selon la technique décrite par Manzanares-Dauleux et al. (2000). Les graines sont semées individuellement dans des plaques Mottefertis pour 60 plantes contenant un mélange de terreau et de vermiculite (2:1, v:v). Les plantes sont ensuite cultivées en serre ou en chambre de culture avec une photopériode de 16h jour/8h nuit et des températures de 22°C le jour et 19°C la nuit. Le dispositif expérimental mis en place pour la caractérisation des pathotypes est un dispositif en blocs complets de Fisher constitué de 3 blocs en randomisant la position des génotypes. La réponse à *P. brassicae* a été évaluée en utilisant jusqu'à 12 plantes par bloc.

Préparation de l'inoculum, inoculation et évaluation de la résistance

Les isolats sont conservés au congélateur à -20°C sous forme de galles de *B. rapa* ssp. *pekinensis* cv 'Granaat' (chou chinois, ECD5) développées après infection par *P. brassicae*. Pour préparer l'inoculum, les galles décongelées sont broyées dans 100 mL d'eau et le broyat est ensuite filtré sur un jeu de tamis de mailages décroissants (500 µm, 250 µm puis 100 µm). Le nombre de spores de repos présentes dans le filtrat obtenu a été quantifié par comptage sur cellule de Malassez pour finalement préparer un inoculum avec une concentration de 10⁷ spores par mL. L'inoculation est réalisée par application de 1 mL d'inoculum à la base du collet des plantules âgées de 7 jours. Le terreau doit être maintenu humide durant la durée du test afin d'optimiser la germination des spores de repos et la pénétration des zoospores à l'intérieur des poils absorbants. La lecture des symptômes est réalisée à 49 jour après inoculation (jai). Les plantes sont déterrées et les racines délicatement lavées à l'eau courante afin de faciliter la lecture des symptômes. Celle-ci est effectuée selon l'échelle de notation décrite par Manzanares-Dauleux et al. (2000). Cinq notes sont attribuées en fonction de la localisation et de l'intensité des symptômes observés : 0, racines saines ; 1, apparition de petites galles sur le système racinaire secondaire ; 2, présence de galles sur le pivot principal et les racines secondaires ; 2+, galles importantes sur l'ensemble du système racinaire à l'exception de quelques racines encore saines ; 3, le système racinaire est remplacé par une galle. La méthode de calcul de l'Indice Pathologique (IP) est indiquée dans la Figure II.4 : un coefficient (0, 25, 50, 75, 100) est affecté au nombre de plantes de chaque classe. Par conséquent, une plante possédant un IP de 0 sera totalement résistante et ne présentera aucun symptôme alors qu'une plante possédant un IP de 100 sera très sensible. Un génotype présentant un IP supérieur à 25 est jugé sensible vis-à-vis du pathotype testé.

Extractions d'ARN, d'ADN et séquençages

A chaque point cinétique (28 et 49 jours après inoculation), les plantes ont été lavées minutieusement à l'eau claire puis les racines ont été prélevées, congelées dans l'azote liquide et lyophilisées. Les ARN totaux seront extraits en utilisant le kit Extraction ARN-SV total Isolation system (Promega). Les échantillons seront traités avec de la DNase pour éliminer d'éventuelles traces résiduelles d'ADN (Promega ref M6 10A). Après extraction, les ARN seront quantifiés à l'aide d'un NanoDrop ND-1000 technologies et leur intégrité sera contrôlée à l'aide du RNA 6000 assay kit total RNA (Agilent). Les échantillons ayant un RIN (RNA integrity number) supérieur ou égal à sept seront utilisés pour le séquençage. La technologie NovaSeq 6000 de type paired-end (150x150) sera utilisée pour le séquençage des ARN messagers.

L'ADN de haut poids moléculaire sera extrait des spores au repos non germées à l'aide d'une méthode modifiée au bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB) afin d'éviter le cisaillement de l'ADN, suivie d'une étape de nettoyage à l'aide de Qiagen Genomic tip (QIAGEN, Germantown, MD, USA). La qualité et la quantité d'ADN extrait et la distribution de la taille des fragments obtenus seront confirmées sur les plateformes de séquençage de l'unité Étude du Polymorphisme des Génomes Végétaux (EPGV) de l'INRAE. La construction des bibliothèques de séquençage et le séquençage seront réalisés par l'EPGV. Le pangéome de *P. brassicae* sera établi à partir du séquençage en longues lectures réalisé en PacBio HIFI de l'ADN des spores de repos des 14 isolats. Le génome de *P. brassicae* étant riche en GC (~59%), la qualité de l'assemblage sera améliorée au niveau nucléotidique par un séquençage Illumina en séquences courtes (NovaSeq 6000 -short reads 150pb).

Assemblage des génomes, annotations et identifications de variants

Les séquences obtenues seront assemblées et annotées *de novo*. L'annotation du génome sera facilitée par l'assemblage du transcriptome et son annotation réalisés à 2 stades du cycle de vie de l'agent pathogène (spore de repos et phase secondaire d'infection à 28 jai) cultivé sur *B. campestris pekinensis*. L'identification des gènes constituant le génome noyau (gènes présents dans tous les isolats), le génome accessoire (gènes présents dans quelques isolats), le niveau et le type de polymorphisme (SNP (Single Nucleotide Polymorphism), Indel, CNV (Copy Number Variation), PAV (Presence Absence Variation)...) de chacun d'eux et les régions concernées sera ensuite réalisée. Les caractéristiques de tous les pangènes seront également déterminées : prédictions de sécrétion, association membranaire, localisation, contenu en cystéine, effecteurs, fonctions prédites (BLAST, GO et annotations Interpro). Lors de ces analyses seront également intégrées les données de séquences déjà disponibles (short reads (Schwelm et al. 2015, Rolfe et al., 2016 ; Bi et al., 2016 ; Sedaghatkish et al. 2019 ; Daval et al., 2019) disponibles à <https://ngdc.cncb.ac.cn/p10k/visualization> et long reads quand/si disponibles (Li et al., 2023)).

Développement de marqueurs moléculaires

Les variations génomiques et génétiques identifiées entre les différents isolats monospores serviront de base pour la définition de marqueurs spécifiques de chacun des pathotypes étudiés dans ce projet. Un set de 192 marqueurs sera dessiné, et testé pour validation à l'aide de puces de génotypage Fluidigm sur un ensemble d'isolats monospores et populations dont le pouvoir pathogène a déjà été caractérisé, soit :

- 14 isolats monospores qui auront servi à l'établissement du pangéome,
- 20 isolats monospores et populations dont certains utilisés par le GEVES et le CTPS pour la caractérisation des variétés résistantes inscrites au Catalogue Officiel Français
- 50 isolats monospores et population de différents pathotypes issus des collections de l'IGEPP, de Terres Inovia et d'autres acteurs de la filière.

Des témoins négatifs (ADN d'autres agents pathogènes des *Brassica* et de plantes) seront également inclus dans cette validation des marqueurs.

Résultats

Les résultats sont en cours d'acquisition, avec à ce jour la multiplication des isolats monospores sur chou chinois, et la caractérisation du pouvoir pathogène sur le set élargi d'hôtes différentiels.

Un pangénome sera établi pour la première fois sur des isolats d'origine française et européenne, comprenant les annotations structurales et fonctionnelles des pangènes (fonctions, processus biologiques et localisation), le nombre de gènes indispensables à l'agent pathogène, le nombre de gènes accessoires, le nombre et types de variants génétiques pour chacune des parties du pangénome.

L'analyse du polymorphisme devrait aboutir à la validation de marqueurs moléculaires spécifiques aux pathotypes séquencés sur la base de 192 marqueurs dessinés.

Discussion, conclusion et perspectives

Par la construction et l'analyse du pangénome de 14 isolats français et européens ce projet apportera des connaissances primordiales pour avancer dans la compréhension des facteurs génétiques contrôlant la pathogénicité de *P. brassicae* et leur (co-)évolution avec leurs plante-hôtes. Ainsi, la construction du pangénome de *P. brassicae* est un préambule pour analyser plus largement la diversité génétique et génomique actuellement existante de *P. brassicae* sur le territoire français et européen. Ce projet est un outil indispensable pour des études futures de génétique d'association et l'identification des variations génétiques responsables de sa pathogénicité. Ce pangénome constitue également une première étape pour aborder les processus d'évolution des effecteurs et de répondre à des questions majeures sur la dynamique entre les cultures et les agents pathogènes.

Ce projet devrait également aboutir au développement d'un set de marqueurs moléculaires permettant une première caractérisation des pathotypes prédominants sur le territoire français. Ces marqueurs, qui seront rendus publics, pourront être utilisés par l'ensemble des acteurs de la filière (institut de recherche, instituts techniques, obtenteurs, coopératives et agriculteurs) pour diagnostiquer les pathotypes majoritaires sur les parcelles. Dans un second temps, une prise en compte plus large de la diversité des pathotypes permettra le développement de nouveaux marqueurs moléculaires diagnostics.

Les résultats obtenus auront ainsi des retombées pour l'ensemble des acteurs de la filière : de la communauté scientifique internationale (connaissance de la diversité de *P. brassicae*, des facteurs génétiques contrôlant la pathogénicité et contribuant à l'évolution des isolats et notamment ceux contournant la résistance de Mendel), aux obtenteurs (développement de résistances adaptées aux pathotypes présents sur le territoire), aux instituts techniques et agriculteurs pour un déploiement efficace et durable de variétés résistantes.

Références bibliographiques

Bi K., He Z., Gao Z., Zhao Y., Fu Y., Cheng J., *et al.*, 2016. Integrated omics study of lipid droplets from *Plasmodiophora brassicae*. *Sci Rep* 6, 36965. doi: 10.1038/srep36965

Buczacki S. T., Toxopeus H., Mattusch P., Johnston T. D., Dixon G. R., and Hobolth L. A., 1975. Study of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae*: proposals for attempted rationalization through an international approach. *Transactions of the British Mycological Society* 65, 295–303.

Daval S., Belcour A., Gazengel K., Legrand L., Gouzy J., Cottret L., *et al.*, 2019. Computational analysis of the *Plasmodiophora brassicae* genome: mitochondrial sequence description and metabolic pathway database design. *Genomics* 111, 1629–1640. doi: 10.1016/j.ygeno.2018.11.013

Diederichsen E., Beckmann J., Schondelmeier J., and Dreyer F., 2006. Genetics of clubroot resistance in *Brassica napus* "Mendel." *Acta Horticulturae*, 307–311.

Diederichsen E., Frauen M., Linders E. G. A., Hatakeyama K., and Hirai, M., 2009. Status and perspectives of clubroot resistance breeding in Crucifer crops. *J Plant Growth Regul* 28, 265–281. doi: 10.1007/s00344-009-9100-0

Fähling M., Graf H., Siemens J., 2003. Pathotype separation of *Plasmodiophora brassicae* by the host plant. *Journal of Phytopathology - Phytopathologische Zeitschrift* 151, 425–430.

Hasan J., Megha S., Rahman H., 2021. Clubroot in Brassica: recent advances in genomics, breeding, and disease management. *Genome* 64, 735–760. doi: 10.1139/gen-2020-0089

Jestin C., Orgeur G., 2014. Hernie du colza, se protéger d'une menace croissante. *Perspectives agricoles*, 24–26.

Li P., Lv S., Zhang Z., Su T., Wang W., Xin X., *et al.*, 2023. Genome assembly of the plant pathogen *Plasmodiophora brassicae* reveals novel secreted proteins contributing to the infection of *Brassica rapa*. *Horticultural Plant Journal*. doi: 10.1016/j.hpj.2023.09.001

Manzanares-Dauleux M. J., Divaret I., Baron F., Thomas G., 2000. Evaluation of French Brassica oleracea landraces for resistance to *Plasmodiophora brassicae*. *Euphytica* 113, 211–218.

Manzanares-Dauleux M. J., Divaret I., Baron F., Thomas G., 2001. Assessment of biological and molecular variability between and within field isolates of *Plasmodiophora brassicae*. *Plant Pathology* 50, 165–173.

Orgeur G., Jestin C., Delaunay A., Lebourg A., Bagot P., Corbel A. L., *et al.*, 2016. Caractérisation des pathotypes de Hernie des Crucifères en France et mise au point d'un test pour l'évaluation de la résistance des variétés de colza. *Innovations Agronomiques*, 145–145.

Orgeur G., Jestin C., Delourme R, *et al.* 2022. Optiplasm : optimisation de l'évaluation officielle des variétés de colza vis-à-vis de la hernie. 13e conference internationale sur les maladies des plantes. Orléans.

Rolfe S. A., Strelkov S. E., Links M. G., Clarke W. E., Robinson S. J., Djavaheri M., *et al.*, 2016. The compact genome of the plant pathogen *Plasmodiophora brassicae* is adapted to intracellular interactions with host Brassica spp. *BMC Genomics* 17, 272. doi: 10.1186/s12864-016-2597-2

Saharan GS., Mehta N., Meena P., 2021. *Clubroot disease of crucifers: biology, ecology and disease management*. Singapore: Springer Nature. Available at: <https://doi.org/10.1007/978-981-16-2133-8>

Schwelm A., Fogelqvist J., Knaust A., Jülke S., Lilja T., Bonilla-Rosso G., *et al.*, 2015. The *Plasmodiophora brassicae* genome reveals insights in its life cycle and ancestry of chitin synthases. *Scientific Reports* 5, 11153. doi: 10.1038/srep11153

Sedaghatkish A., Gossen B. D., Yu F., Torkamaneh D., McDonald M. R., 2019. Whole-genome DNA similarity and population structure of *Plasmodiophora brassicae* strains from Canada. *BMC Genomics* 20, 744. doi: 10.1186/s12864-019-6118-y

Somé A., Manzanares M. J., Laurens F., Baron F., Thomas G., Rouxel F., 1996. Variation for virulence on Brassica napus L. amongst *Plasmodiophora brassicae* collections from France and derived single-spore isolates. *Plant Pathology* 45, 432–439.

Tettelin H., Masignani V., Cieslewicz M. J., Donati C., Medini D., Ward N. L., *et al.*, 2005. Genome analysis of multiple pathogenic isolates of *Streptococcus agalactiae*: implications for the microbial “pan-genome.” *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 13950–13955. doi: 10.1073/pnas.0506758102

Zamani-Noor N., Wallenhammar A.-C., Kaczmarek J., Patar U. R., Zouhar M., Manasova M., *et al.*, 2022. Pathotype Characterization of *Plasmodiophora brassicae*, the Cause of Clubroot in Central Europe and Sweden 2016–2020. *Pathogens* 11, 1440. doi: 10.3390/pathogens11121440

Zheng J., Wang X., Li Q., Yuan S., Wei S., Tian X., *et al.*, 2018. Characterization of Five Molecular Markers for Pathotype Identification of the Clubroot Pathogen *Plasmodiophora brassicae*. *Phytopathology*® 108, 1486–1492. doi: 10.1094/PHYTO-11-17-0362-R

Zheng J., Wang X., Xiao Y., Wei S., Wang D., Huang Y., *et al.*, 2019. Specific Genes Identified in Pathotype 4 of the Clubroot Pathogen *Plasmodiophora brassicae*. *Plant Dis* 103, 495–503. doi: 10.1094/PDIS-05-18-0912-RE

Zhou Q., Hwang S. F., Strelkov S. E., Fredua-Agyeman R., Manolii V. P. 2018. A molecular marker for the specific detection of new pathotype 5-like strains of *Plasmodiophora brassicae* in canola. *Plant Pathology* 67, 1582–1588. doi: 10.1111/ppa.12868

Remerciements :

Ce travail a bénéficié du soutien du Carnot Plant2Pro® dans le cadre de son appel à projets 2023. Plant2Pro® est financé par l'ANR (convention n° 23-CARN-0024-01).

Nous remercions également le GEVES pour la mise à disposition des isolats monospores, qui seront séquencés et contribueront à la construction du pangénome. Nous exprimons également nos remerciements à Limagrain pour la fourniture des semences du panel ECD.