

## Prix de mémoire de fin d'études de la fondation Xavier BERNARD

Immunité végétale : caractérisation métabolomique des exsudats racinaires de plantes d'intérêt agronomique (pois et féverole) lors de l'infection par l'agent pathogène oomycète *Aphanomyces euteiches*



Mélanie FORTIER

Ingénieur Agronome, spécialité Protection des Plantes et Environnement (PPE)

Encadrantes : Laure GUILHAUDIS, Marie-Laure FOLLET-GUEYE et Maité VICRÉ

Tutrice : Florence VAL



# *Aphanomyces euteiches*, un agent pathogène majeur qui menace les cultures de pois

## Systemes racinaires de pois



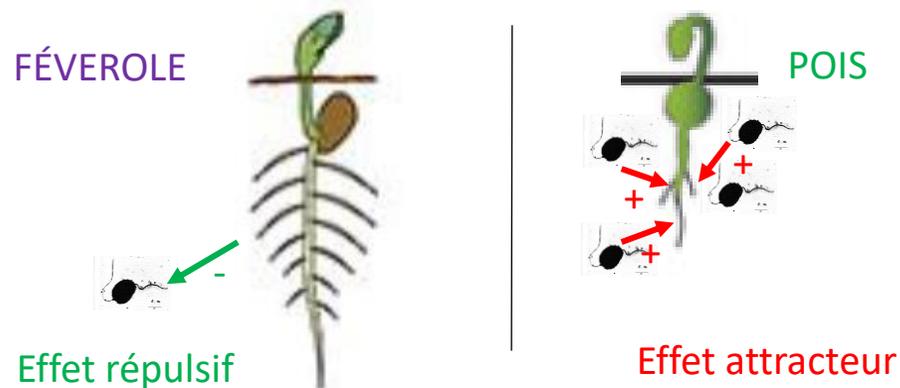
(Terres Inovia, 2019)

*A. euteiches* : rendements jusqu'à -80% chez le pois en France (Gaulin et al., 2007)

**Caractérisation métabolomique** des exsudats par **RMN**  
(Résonance Magnétique Nucléaire)

- ➔ Étude sans *a priori* de la composition des exsudats racinaires du pois et de la féverole
- ➔ Étude des profils d'exsudation

### Avec infection préalable des racines



Effet chimiotactique des exsudats racinaires de pois et de féverole sur les zoospores d'*A. euteiches* (D'après Laloum et al., 2021, images © Syngenta France)

Hypothèse : protection contre *A. euteiches* assurée par les exsudats de féverole ?

## Préparation des échantillons et analyses RMN

- 1- Semis de graines stérilisées  
sur milieu nutritif



- 2- Culture en hydroponie  
4 jours



- 3- Centrifugation et lyophilisation  
du milieu de culture

## Préparation des échantillons et analyses RMN

1- Semis de graines stérilisées  
sur milieu nutritif



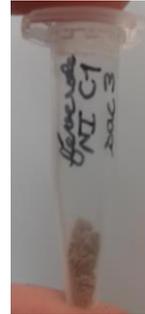
2- Culture en hydroponie  
4 jours



3- Centrifugation et lyophilisation  
du milieu de culture

4- Dissolution des exsudats

5 à 10mg  
D<sub>2</sub>O tampon phosphate + DSS  
pH=7,4



DSS : acide 4,4-diméthyl-4-silapentane-1-sulfonique

5- Vortex

6- Sonication 5 min

7- Centrifugation 10 min, 10000rpm

8- Récupération du surnageant dans un  
tube RMN

## Préparation des échantillons et analyses RMN

### 1- Semis de graines stérilisées sur milieu nutritif



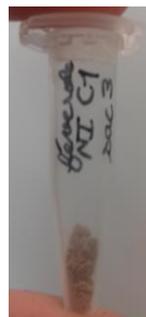
### 2- Culture en hydroponie 4 jours



### 3- Centrifugation et lyophilisation du milieu de culture

### 4- Dissolution des exsudats

5 à 10mg  
D<sub>2</sub>O tampon phosphate + DSS  
pH=7,4



DSS : acide 4,4-diméthyl-4-silapentane-1-sulfonique

### 5- Vortex

### 6- Sonication 5 min

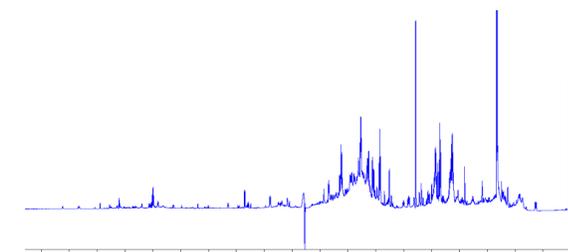
### 7- Centrifugation 10 min, 10000rpm

### 8- Récupération du surnageant dans un tube RMN

### 9- Acquisition des spectres RMN



Spectromètre BRUKER AVANCE III 600MHz  
Température : 298K



Spectre 1D NOESY

NOESY : Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

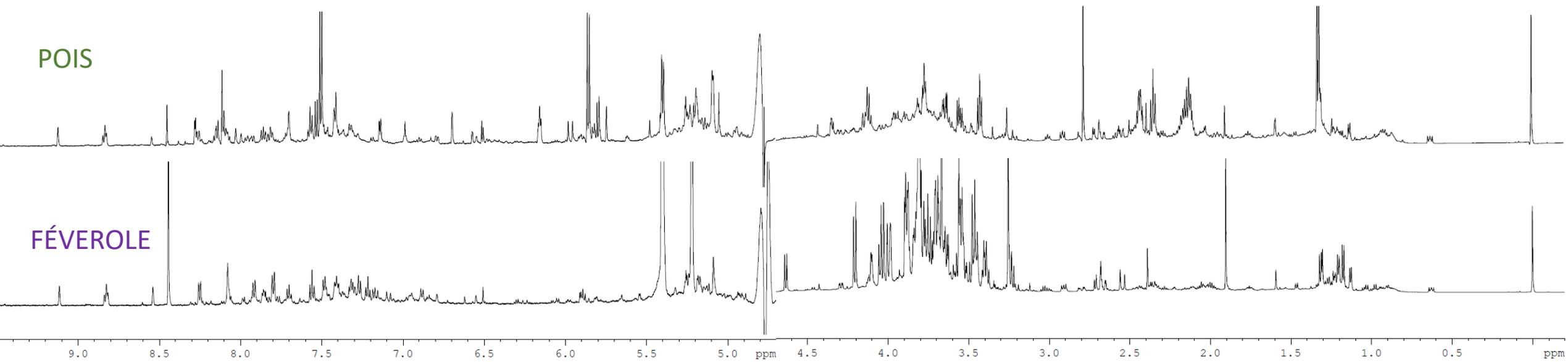
### 10- Analyse des spectres et identification des composés



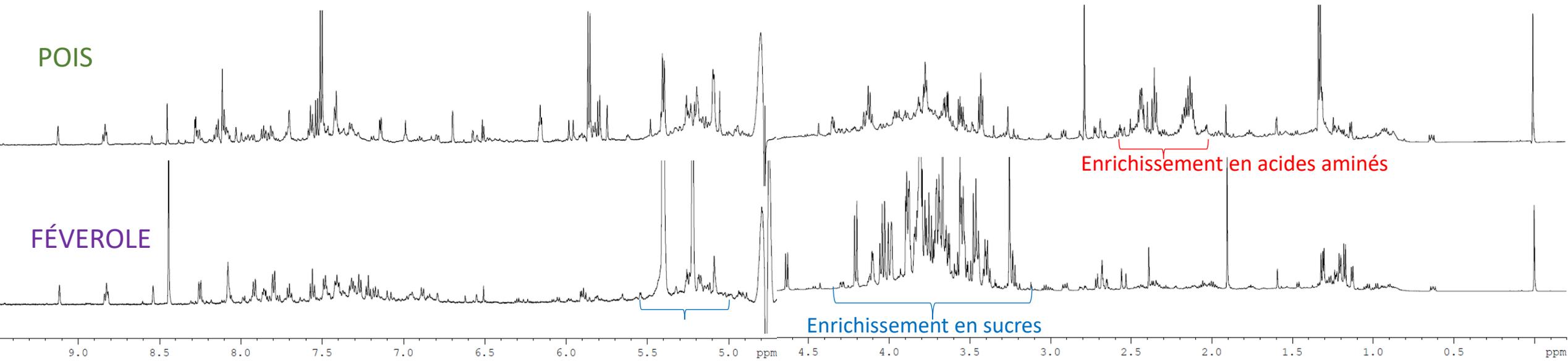
### 11- Analyses statistiques des profils d'exsudation



## Profils métaboliques des exsudats de pois et de féverole par RMN



## Profils métaboliques des exsudats de pois et de féverole par RMN

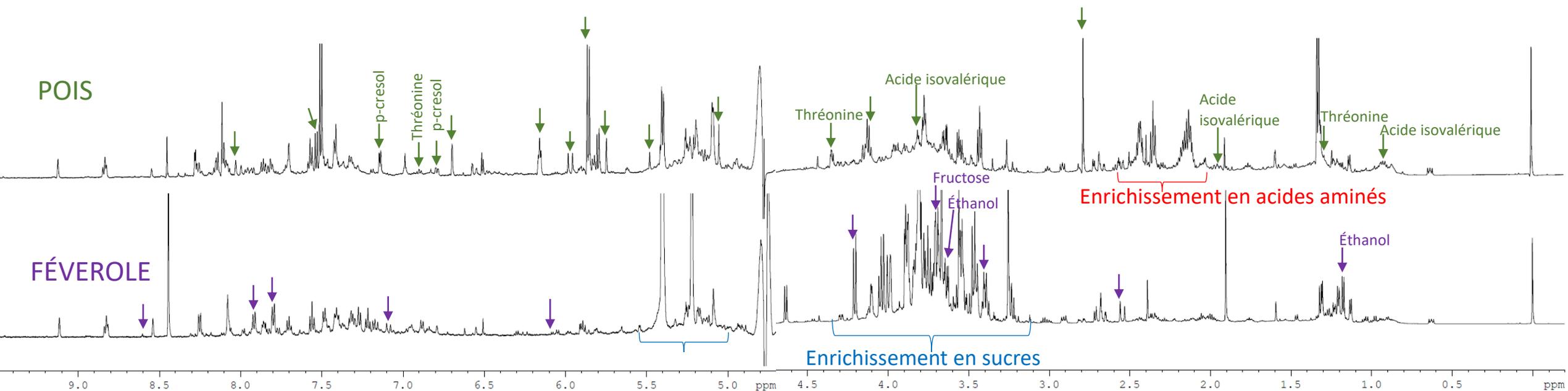
Principales différences de **concentrations** des exsudats

45 composés identifiés chez le pois, 44 chez la féverole

## Profils métaboliques des exsudats de pois et de féverole par RMN

Principales différences de **composition** des exsudats

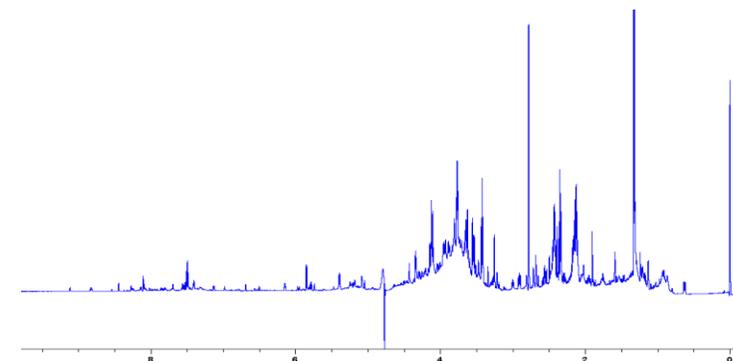
- Signaux spécifiques des exsudats de pois
- Signaux spécifiques des exsudats de féverole



45 composés identifiés chez le pois, 44 chez la féverole

**Obtention de profils métaboliques caractéristiques de chaque espèce**

**Identification de nombreux composés, dont certains spécifiques**



### Perspectives

#### Compléter l'identification des métabolites

- Enrichissement des bases de données



- Ajout de composés en excès

**Comparer les profils d'exsudation en présence du pathogène ou d'éliciteurs**



# Merci de votre attention !



Merci à Laure GUILHAUDIS, Marie-Laure FOLLET-GUEYE, Maïté VICRÉ et Florence VAL

