HAL
open science

Rôle des effecteurs TAL dans l'interaction Xanthomonas-haricot et apports dans la lutte contre la graisse commune

Justine Foucher

To cite this version:

Justine Foucher. Rôle des effecteurs TAL dans l'interaction Xanthomonas-haricot et apports dans la lutte contre la graisse commune. Agronomie. Agrocampus Ouest, 2020. Français. NNT : 2020NSARC151 . tel-03578354

HAL Id: tel-03578354

https://theses.hal.science/tel-03578354

Submitted on 17 Feb 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

DOCTORAT ECOLOGIE BRETAGNE GEOSCIENCES LOIRE AGRONOMIE ALIMENTATION

l'institut Agro
agriculture • alimentation • environnement

AGRO CAMPUS OUEST

THESE DE DOCTORAT DE

L'INSTITUT NATIONAL D'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR POUR L'AGRICULTURE, L'ALIMENTATION ET L'ENVIRONNEMENT
ECOLE INTERNE AGROCAMPUS OUEST

ECOLE DOCTORALE N° 600
Ecole doctorale Ecologie, Géosciences, Agronomie et Alimentation
Spécialité : Sciences agronomiques

Par
Justine FOUCHER

Rôle des effecteurs TAL dans l'interaction *Xanthomonas*-haricot et apports dans la lutte contre la graisse commune.

Thèse présentée et soutenue à Angers, le 17 décembre 2020
Unité de recherche : IRHS1345 Equipe EmerSys
Thèse N° : 2020-33 C-151

Rapporteurs avant soutenance :

Alia DELLAGI	PR - AgroParisTech, UMR IJPB
Matthieu ARLAT	PR - Unversité Toulouse III Paul Sabatier, LIPM

Composition du Jury :

Président : Mathilde Briard

Examinateurs :	Mathilde BRIARD	PR - L'institut Agro, UMR IRHS
	Mathilde HUTIN	CR - IPME
Dir. de thèse :	Marie-Agnès JACQUES	DR - INRAE, UMR IRHS
Co-dir. de thèse :	Nicolas CHEN	MDC - L'institut Agro, UMR IRHS

A mes parents
et mon frère

« Je suis de ceux qui pensent que la science est d'une grande beauté. Un scientifique dans son laboratoire est non seulement un technicien : il est aussi un enfant placé devant des phénomènes naturels qui l'impressionnent comme des contes de fées. »

Marie Curie

Remerciements

Tout d'abord, je remercie la région Pays de Loire, le département SPE de l'INRAE et le RFI pour avoir financé le projet de thèse BRUTAL, grâce à qui ma thèse a vu le jour.

J'adresse également mes remerciements aux membres de mon jury de thèse pour avoir accepté d'évaluer mes travaux : Alia Dellagi, Matthieu Arlat, Mathilde Briard et Mathilde Hutin. Je tiens aussi à remercier Valérie Geffroy et Boris Szurek, membres de mon comité de suivi individuel, pour leurs conseils avisés et leur bienveillance tout au long de cette thèse.

Nous y voilà, la fin de la thèse et surtout d'une grande aventure. Et quand je me retourne, je vois ces cinq belles années de master et de thèse que j'ai passé auprès de vous, la grande famille EmerSys.

Nicolas Chen, un grand merci pour m'avoir donné l'opportunité de faire cette thèse, de m'épanouir dans le domaine de la recherche et d'en apprendre autant dans le domaine scientifique que sur moi-même. Je me souviens de cet entretien pour mon stage de master 1 où tu m'as fait découvrir le monde captivant des effecteurs TAL. J'ai tout de suite su que je voulais en apprendre davantage sur ces effecteurs et qu'on allait bien s'entendre. Et puis finalement, je suis restée un peu plus longtemps que prévu, et j'en ai beaucoup appris. Je voudrais te remercier pour ton soutien sans faille pendant ces cinq dernières années, pour ta bienveillance constante, tes conseils avisés et pour toutes nos réunions parfois longues mais toujours passionnantes. Merci aussi pour ton écoute et ta générosité, ton enthousiasme et ton optimisme communicatif (J'accepte !) et surtout pour ton humour inimitable (je crois que je n'oublierais jamais le jour de mes 25 ans !).

Marie-Agnès, un grand merci à toi pour tout le temps que tu m'as accordé malgré ton emploi du temps chargé, pour tous tes encouragements et ton soutien, et pour nos longues discussions durant ces nombreuses réunions de thèse très enrichissantes pour moi.

Mes encadrants, vous avez été là du début à la fin (même pendant le confinement !), merci de m'avoir fait confiance pour ce projet, et d'avoir su me faire grandir sur ce long chemin qu'est la thèse. Merci aussi d'avoir relu tout ce que j'ai pu écrire, et de m'avoir donné l'opportunité de présenter mes travaux de recherche lors de différents congrès. Ces expériences ont été très enrichissantes pour moi, et resteront de très bons souvenirs de partages scientifiques et humains.

Sophie B., merci pour tout le travail que tu as accompli dans ce projet, pour tous tes conseils et ton aide sur les manips comme sur les analyses et les discussions scientifiques. Merci aussi pour nos longues discussions souvent accompagnées de rire, toutes les confiseries que tu m'as données et surtout pour cette belle porte de bureau ! Y'a moyen que je reparte avec ;).

Merci aussi à toi Mylène, tu as su me transmettre tout ce que j'avais besoin d'apprendre durant mes stages et le début de cette thèse, ton aide a grandement contribué au bon déroulement de cette thèse. Merci aussi pour toutes les discussions scientifiques ou non que l'on a pu avoir. Je suis heureuse de te revoir au labo, et je te souhaite tout le meilleur pour la suite.

Charlotte, ma super stagiaire, se fut un réel plaisir de travailler avec toi et de te transmettre tout ce que je savais sur les effecteurs TAL. L'encadrement de ton stage de master 1 a été une expérience très enrichissante pour moi, et je suis heureuse de savoir que je laisse la suite de ce projet de thèse entre tes mains. J'espère que tu auras la chance de pouvoir vivre une aussi belle expérience que la mienne, mais je ne me fais pas de soucis pour ça. Je te souhaite de t'amuser au moins tout autant que moi pendant ces 3 ans.

Merci à tout le reste de l'équipe EmerSys. Felipe, mon collègue de bureau, merci pour les deux ans que j'ai pu passer à tes cotés. Merci pour ta joie de vivre, ton humour et tous tes petits cadeaux. Martial, merci pour toute l'aide que tu as pu m'apporter en bioinformatique (et surtout pour les mots de passe du serveur…). Anne, merci pour toutes tes idées ingénieuses, pour m'avoir dépanné plus d'une fois pour des autoclaves et pour nos discussions et ton enthousiasme. Brice, merci pour ton aide sur les RT-qPCR et nos échanges amicaux. Merci Tristan pour tous tes conseils et ton aide sur le phénotypage. Merci à Chrystelle et Géraldine pour les bons échanges que nous avons pu avoir et pour la gestion des commandes et des pipettes. Audrey, merci pour toutes les autoclaves et tout le matériel que tu fournis chaque jour au labo, merci aussi pour nos échanges amicaux. Merci à Perrine, Marion, Matthieu B., Coralie, Karine, Marie, Alain, Armelle, Cecile, Sophie C., Quentin, Damien et Killian pour tous les conversations partagées et votre aide dans vos domaines d'expertises. Merci aussi Valérian pour les discussions que l'on a pu avoir sur la fluorescence de chlorophylle et Guillaume C. pour ton aide sur R et nos nombreuses conversations amicales sans oublier toutes tes petites farces. Enora, Caroline, Ellen, Guillaume C., et Coralie, merci pour tous les bons moments que l'on a pu passer au labo et en dehors. Tiffany, tu viens tous juste d'arriver, mais j'ai pu échanger un peu avec toi. Je te souhaite de bons moments dans cette équipe.

Un merci tout particulier à Daniel, pour m'avoir guidé, conseillé et aidé durant les nombreux tests en serres que j'ai pu faire. Merci d'avoir toujours su répondre à mes demandes et d'avoir pris soin de mes très chers Bat et Jalo. Je remercie aussi Rémi, Claudine, Claude et Christine pour leur aide en serres. Un grand merci aussi à Florian et Guillaume L. de la plateforme Phenotic pour avoir traité toutes mes données d'imageries de fluorescence.

Merci aussi à d'autres personnes de l'IRHS qui ont pu m'aider durant ma thèse comme Mélanie pour les commandes, Sandra pour ton script d'analyse RNA-Seq, Matthieu G. pour tes conseils sur les RT-qPCR et Muriel pour les RT-qPCR sur le robot. Merci aussi à Marie-Anne, Julia et Justine pour m'avoir donné l'opportunité de donner des cours dans les meilleures conditions possibles.

En dehors de l'IRHS, je tiens à remercier tout particulièrement Laurent Noël, Corinne Audran et David Belhaddad du LIPM à Toulouse, pour m'avoir accueilli chaleureusement sur Toulouse et pour m'avoir formé au Western Blot. Je remercie aussi Marlène Lachaux qui a partagé cette expérience avec moi et avec qui j'ai passé de bons moments. Merci aussi à Sébastien Carrère pour le traitement de toutes les données RNA-Seq présentées dans cette thèse.

Merci aussi à Aude Rochefort et Julien Luneau, qui arrivent tout comme moi au bout de leur thèse. Ce fut un plaisir de vous retrouver lors de vos passages au labo, ou durant les congrès que l'on a pu partager et qui resteront de très bons souvenirs pour moi.

Merci aussi aux organisateurs du doctoberfest, Alexandre P. et Alexandre B. pour les bons moments que j'ai pu passer avec d'autres doctorants autour d'un verre. Merci aussi à ceux avec qui j'ai partagé l'animation d'une nuit des chercheurs.

Vous allez tous me manquer, c'est certain, mais j'espère que de belles perspectives m'attendent pour la suite.

Sur un plan plus personnel, je tiens à remercier mes parents Mireille et Michel pour leur soutien inconditionnel et leur amour infini. Vous avez toujours su être là pour moi dans les bons moments comme dans les mauvais. Vous avez toujours cru en moi, et vous m'avez fait confiance dans mes choix toujours avec enthousiasme. Vous êtes des parents formidables, grâce à vous je n'ai jamais manqué de rien, et vous m'avez donné toutes les chances pour réussir. Merci pour l'éducation et l'affection que vous m'avez donné, pour vos conseils et votre écoute toujours attentive. Si j'en suis là aujourd'hui, c'est avant tout grâce à vous, et je crois que je n'aurais jamais assez de mots pour vous remercier. Merci à toi aussi mon petit frère Emilien, tu sais être là quand j'en ai besoin, pour ta générosité et ta compréhension. Tu sais que je veillerais toujours sur toi, et j'ai bien conscience que j'ai beaucoup de chance d'avoir un petit frère comme toi. Merci pour tous les bons moments que l'on partage, pour ton soutien, tes bons conseils et merci d'avoir toujours cru en moi. Vous êtes ma force, et je tiens à vous trois plus que tout au monde.

Simon, merci d'avoir chamboulé ma vie il y a déjà bientôt 4 ans. Ton amour et ton regard sur moi me font grandir et devenir meilleure chaque jour. Merci pour ton soutien pendant cette thèse, et tous les bons moments que l'on partage au quotidien. Merci pour tout l'amour et la tendresse que tu me donnes, et pour ton humour qui m'a permis de dédramatiser plus d'une fois. Merci d'avoir toujours pris le temps de m'écouter pour trouver des solutions face à mes interrogations durant cette thèse. Et je n'oublie pas ces derniers mois particulièrement intenses. Merci d'avoir absolument tout géré à la maison, et de ne jamais m'avoir fait culpabiliser. Je crois que je t'ai trouvé et j'ai beaucoup de chance de t'avoir, tu sais combien je tiens à toi, et j'espère que de chouettes aventures nous attendent encore pendant longtemps.

Enfin, mes amis, merci d'avoir été là pendant ces trois ans. Soline, Clovis, Mehdi et Hélène depuis le collège voire l'école primaire, on a toujours su garder contact, et vous avez toujours été là quand j'en avais besoin, merci à vous. Jules, Jérémy, Justine, Alexis, Romain, Nicolas, Quentin, Yoran, Aouregan, Fabrice, Johanna, Manon, Cecile et Yannick, merci pour toutes ces soirées qui m'ont permis de décompresser et pour toutes nos bêtises. Merci pour tous vos conseils, toutes nos discussions et nos fous rires. Un merci tout particulier à Alexis et Justine pour avoir pris le temps de relire certaines parties de cette thèse. Vous êtes ma deuxième famille, mon oxygène, et vous savez combien je tiens à chacun d'entre vous.

Pour finir, merci à tous ceux que j'aurais pu oublier dans ces remerciements de thèse, et qui ont participé à leur manière à cette aventure.

Table des matières

Introduction 1
1. Mécanistique des interactions plantes-pathogènes 5
1.1. Les barrières préformées 7
1.2. La détection des pathogènes 9
1.2.1. La reconnaissance d'éliciteurs extracellulaires 9
1.2.2. La reconnaissance d'éliciteurs intracellulaires 11
1.2.3. Résistance par perte de sensibilité 13
1.3. La transduction du signal 15
1.3.1. La production de molécules signal 15
1.3.2. L'induction de voies MAPK 15
1.3.3. L'induction des voies hormonales 17
1.4. La mise en place des défenses 19
1.5. Le contournement des défenses 19
1.6. Des modèles face à des réalités 23
1.6.1. Le modèle de Flor 23
1.6.2. Le modèle en zig-zag 25
1.6.3. La notion de système de surveillance 27
2. Les *Xanthomonas* et leurs effecteurs 29
2.1. Les *Xanthomonas* 29
2.2. Les ET3 de *Xanthomonas* 35
2.2.1. Les effecteurs TAL 35
2.2.1.1. Découverte, structure et fonctionnement 35
2.2.1.1.1. Découverte 35
2.2.1.1.2. Structure et fonction 37
2.2.1.2. Le rôle des effecteurs TAL dans la sensibilité 43
2.2.1.3. La résistance aux effecteurs TAL et son contournement 47
2.2.1.3.1. La résistance par perte de sensibilité 47
2.2.1.3.2. La résistance par détection des effecteurs TAL 49
2.2.1.3.3. L'induction de résistance par les effecteurs TAL 51
2.2.1.4. Les effecteurs TAL comme outils biotechnologiques 53
3. Le pathosystème haricot-*Xanthomonas* 59
3.1. Le haricot 59
3.1.1. Intérêts économique, environnemental et nutritionnel du haricot 59

3.1.2. Histoire évolutive et sélection du haricot 61
3.2. La graisse commune du haricot 65
3.2.1. Incidence de la maladie 65
3.2.2. Les *Xanthomonas* responsables de la graisse commune du haricot 65
3.2.3. Symptomatologie 67
3.2.4. Le cycle infectieux 67
3.2.5. Spécificité d'hôte, adaptation et co-évolution 71
3.2.6. Les moyens de lutte 73
3.2.6.1. La lutte prophylactique 73
3.2.6.2. La lutte chimique 75
3.2.6.3. La lutte biologique 75
3.2.6.4. La lutte génétique 77
4. Objectif de la thèse 83

Chapitre 1 : Impact de *Xanthomonas* sur le transcriptome du haricot en contexte résistant ou sensible 85
1. Préambule 87
2. Common bean resistance to *Xanthomonas* is associated with upregulation of the salicylic acid pathway and downregulation of photosynthesis 89
3. Discussion et perspectives 119

Chapitre 2 : Mise au point d'un test de pouvoir pathogène discriminant pour l'étude des effecteurs TAL 121
1. Préambule 123
2. Improving common bacterial blight phenotyping by using rub-inoculation and machine learning: cheaper, better, faster, stronger. 127
3. Discussion et perspectives 149

Chapitre 3 : Découverte de la cible de XfuTAL1 151
1. Préambule 153
2. TALE-induced *AINTEGUMENTA-like 1* promotes common bacterial blight of bean. . 155
3. Discussion et perspectives 185

Chapitre 4 : Etude de la structure de TAL18H, de son rôle dans la pathogénie de *Xpp* et de ses cibles potentielles 187
1. Préambule 189

2. TAL18H: a rendez-vous between an atypical TALE repeat and an atypical RVD..... 191
3. Résultats complémentaires 219
3.1. Impact de TAL18H sur le transcriptome de BAT93 et JaloEEP558 219
3.2. Recherche de la cible de TAL18H 221
4. Discussion et perspectives 227

Discussion générale et perspectives 229
1. La caractérisation de l'interaction haricot-*Xanthomonas* 231
1.1. Le phénotypage d'une interaction complexe 231
1.2. La coévolution entre le haricot et *Xanthomonas* 233
1.3. Les réponses transcriptomiques du haricot à *Xanthomonas* 235
1.4. Le rôle des effecteurs TAL dans l'interaction haricot-*Xanthomonas* 239
1.4.1. Rôle et évolution de *Xfutal1* 241
1.4.2. Le rôle de *Xfutal2* 243
2. La durabilité des résistances 245
2.1. La résistance aux effecteurs TAL 245
2.2. Les autres moyens de résistance 249

Conclusion générale 251

Références bibliographies 255

Liste des Figures

Introduction

Figure 1. Différents mécanismes de reconnaissance des pathogènes par les plantes.
Figure 2. Réponses cellulaires et physiologiques déclenchées lors de la reconnaissance d'un pathogène par la plante.
Figure 3. Voies de signalisation hormonale impliquées dans la mise en place de défenses.
Figure 4. Structure du système de sécrétion de type III (SST3) bactérien.
Figure 5. Modèle de Flor de relation gène pour gène.
Figure 6. Modèle de coévolution en zig-zag de l'interaction hôte-pathogène.
Figure 7. Exemples de maladies provoquées par des bactéries du genre *Xanthomonas.*
Figure 8. Colonies de *X. phaseoli* pv. *phaseoli* (A) et de *X. citri* pv. *fuscans* (B).
Figure 9. Les différents systèmes de sécrétion de *Xanthomonas*.
Figure 10. Frise chronologique des recherches effectuées sur les effecteurs TAL.
Figure 11. Mode d'action des effecteurs TAL.
Figure 12. Structure d'un effecteur TAL.
Figure 13. Fréquence des nucléotides fixés par chaque RVD.
Figure 14. Structure cristallographique d'un effecteur TAL.
Figure 15. Les différents mécanismes de résistance aux effecteurs TAL.
Figure 16. Mécanismes de contournement de la résistance aux effecteurs TAL.
Figure 17. Méthodologie de construction d'un effecteur TAL artificiel.
Figure 18. Méthode d'évaluation de l'interaction d'un effecteur TAL avec sa cible basée sur l'utilisation du gène rapporteur GUS.
Figure 19. Outils biotechnologiques développés à l'aide d'effecteurs TAL.
Figure 20. La production de haricots dans le monde.
Figure 21. Distributions des différentes espèces de *Phaseolus* (A), et des différents pools géniques de *P. vulgaris* (B).
Figure 22. Arbre phylogénétique des *Xanthomonas* responsables de la graisse commune du haricot.
Figure 23. Symptômes de graisse commune du haricot sur différents organes.

Chapitre 1 : Impact de *Xanthomonas* sur le transcriptome du haricot en contexte résistant ou sensible

Figure 1. Pathogenicity of strain CFBP6546R on BAT93 and JaloEEP558.
Figure 2. Global impact of strain CFBP6546R on the transcriptomes of BAT93 and JaloEEP558.
Figure 3. Venn diagram depicting the numbers of DEGs in BAT93 and JaloEEP558 during the interaction with strain CFBP6545R.
Figure 4. Enrichment tests on the core, the BAT93-specific and the JaloEEP558-specific transcriptomes.
Figure 5. MapMan overview of DEGs in metabolic pathways (a) and the photosynthetic electron transport chain (b).
Figure 6. Venn diagram showing the numbers of DEGs potentially linked to resistance to CBB.
Figure S1. Statistical analysis of RNA-Seq data.

Figure S2. Validation of RNA-Seq results by RT-qPCR analysis in BAT93 (A) and JaloEEP558 (B).
Figure S3. Numbers of DEGs in the different families of transcription factors.
Figure S4. KEGG orthology map for plant hormone signal transduction.

Chapitre 2 : Mise au point d'un test de pouvoir pathogène discriminant pour l'étude des effecteurs TAL

Figure 1. Strain 6546R is more aggressive than strain 6165R.
Figure 2. Visualization of symptoms produced by strains 6546R (**a**, **b**) of 6165R (**c**, **d**).
Figure 3. Description of *tal* mutant strains 6546RΔ*tal18H* (**a**, **c**, **e**) and 6165RΔ*tal22B* (**b**, **d**, **f**). Western blot analysis of TALEs (**a**, **b**).
Figure 4. Evaluation of the symptoms caused by *tal* mutant strains.

Chapitre 3 : Découverte de la cible de XfuTAL1

Figure 1. TALE-induction of *PvAIL1* contributes to CBB symptoms.
Figure 2. Phylogeny of AP2 family members.
Figure 3. Sequence of *PvAIL1* promoter region.
Figure 4. Aggressiveness of *Xpp* and *Xcf* strains is not correlated with TALE content or genetic lineage.
Figure S1. Western blot of dTALEs.
Figure S2. Bacterial growth dynamics of 6165RΔ*tal22B* complemented by dTALEs.

Chapitre 4 : Etude de la structure de TAL18H, de son rôle dans la pathogénie de *Xpp* et de ses cibles potentielles

Figure 1. Details on the four amino acid motifs found at the start of TALE repeats.
Figure 2. Binding specificity of HY and impact of the MTLA motif.
Figure 3. TAL18H contributes to CBB symptoms and *in planta* bacterial growth.

Résultats complémentaires :

Figure 1. Impact de TAL18H sur le transcriptome de BAT93 (A) et JaloEEP558 (B).
Figure 2. Diagramme de Venn des GDE chez BAT93 et JaloEEP558.
Figure 3. Localisation des EBE de TAL18H et des dTALE-NDH18 dans le promoteur de *PvNDH18*.
Figure 4. Cartographie de la région *TALIR*.
Figure 5. Localisation de l'EBE de TAL18H et des dTALE-TALIR dans la région promotrice du transcrit *TALIR*.
Figure 6. Evaluation du rôle de *TALIR* et *PvNDH18* comme cible de TAL18H.

Liste des Tableaux

Introduction

Tableau 1. Liste non exhaustive de PRR à action connue.
Tableau 2. Fonction et distribution d'ET3 de *Xanthomonas*.
Tableau 3. Nombre d'effecteurs TAL au sein de diverses espèces de *Xanthomonas*.
Tableau 4. Fonctions et gènes ciblés par des effecteurs TAL.
Tableau 5. Diversité des effecteurs TAL des *Xpp-Xcf*.
Tableau 6. Liste des 27 QRL identifiés chez le haricot contre la graisse commune.

Chapitre 1 : Impact de *Xanthomonas* sur le transcriptome du haricot en contexte résistant ou sensible

Tableau 1. Summary of sequencing, assembly and annotation data.
Tableau 2. Candidate genes for resistance to CBB.
Tableau S1. Number of genes shared among common bean genomes, as determined by reciprocal blastp (e-value <1E-6).
Tableau S2. List of homologs shared by BAT93 and JaloEEP558.
Tableau S3. List of DEGs in BAT93 and JaloEEP558 48 h after inoculation by *X. phaseoli pv. phaseoli* strain CFBP6546R.
Tableau S4. Raw enrichment tests on the core, BAT93- specific or JaloEEP558-specific transcriptomes.
Tableau S5. Enrichment tests on the core, BAT93- specific or JaloEEP558-specific transcriptomes, using induced or repressed DEGs separately.
Tableau S6. List of enriched MapMan bins in the BAT93-specific and JaloEEP558-specific transcriptomes.
Tableau S7. Lists of DEGs in different functions.
Tableau S8. List of DEGs with $|\Delta\log_2 FC| > 5$.
Tableau S9. List of DEGs with an inverse expression pattern between BAT93 and JaloEEP558.
Tableau S10. List of DEGs in the four QRLs to CBB described in the progeny of BAT93xJaloEEP558 (Nodari *et al.*, 1993).
Tableau S11. Genetic markers associated to the four QRLs to CBB described by Nodari *et al.* 1993.
Tableau S12. Results of the enrichment tests according to the core, BAT93-specific or JaloEEP558-specific transcriptome and according to different $\log_2 FC$ threshold.
Tableau S13. Primers used for RT-qPCR assays.

Chapitre 2 : Mise au point d'un test de pouvoir pathogène discriminant pour l'étude des effecteurs TAL

Table 1. List of predicted CDS in the two deleted regions of 6546RΔ*tal18H*.
Table 2. Characteristics of pathogenicity tests.
Table S1. List of primers used for *tal* mutagenesis.

Chapitre 3 : Découverte de la cible de XfuTAL1

Table S1. List of strains used in this study.
Table S2. RVD sequences of dTALEs.
Table S3. Prediction ranks of the EBE sequence identified in the promoter of *PvAIL1*.

Chapitre 4 : Etude de la structure de TAL18H, de son rôle dans la pathogénie de *Xpp* et de ses cibles potentielles

Table 1. Constructions produced for GUS assays and pathogenicity tests.
Table S1. Bacterial strains and plasmids used in this study.
Table S2. Primers used in this study.

Résultats complémentaires :

Tableau 1. Fonctions enrichies en présence de TAL18H.
Tableau 2. Listes des cibles potentielles de TAL18H.

Abréviations

ABA : Acide Abscissique

AD : Activation Domain

AIL : AINTEGUMENTA-LIKE

AIL1 : AINTEGUMENTA-LIKE 1

AIM : Agrobacterium Infiltration Medium

AP : Acide Phosphatidique

AP2/ERF : APETALA 2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR

bHLH : Basic Helix-Loop-Helix

CBB : Common Bacterial Blight

CC : Coiled Coil

CDK : Cycline Dependant-Kinase

cDNA-AFLP : CDNA-Amplified Fragment Length Polymorphism

CDPK : Calcium-Dependent Protein Kinase

CFI: Chlorophyll Fluorescence Imaging

cfu : colonie formant unité / colony-forming units

CIAT : Centro Internacional de Agricultura Tropical

CIPK : Calcineurin B-like protein-Interacting Protein Kinase

CNL : CC-NB-LRR

DEG : Differentially-Expressed Gene

DPI : Days Post Inoculation

DSF : Diffusible Signaling Factor

dTALE : designer TALE

EBE : Effector Binding Element

EDS1: ENHANCED DISEASE SUSCEPTIBILITY 1

EPG : Endopolygalaturonases

eQTL : Expression Quantitative Trait Locus

ET : Ethylène / Ethylen

ET3 / T3E : Effecteur de Type III / Type III Effector

ETI : Effector-Triggered Immunity

ETS : Effector-Triggered Susceptibility

ExIP : Extracellular Immunogenic Pattern

ExTI : Extracellularly Triggered Immunity

GL : Genetic Lineage

GO: Gene Ontology

GUS: β-glucuronidase

GWAS : Genome Wide Association Study

HR : Hypersensitive Response

hrp : Hypersensitive Reaction and Pathogenicity

HSP: Heat-Shock Protein

IA : Image Analysis

ID : Integrated Domain

InIP : Intracellular Immunogenic Pattern

InTI : Intracellularly Triggered Immunity

IP : Invasion Pattern

IPR : Invasion Pattern Receptor

IPTR : Invasion Pattern Triggered Response

IS: Insertion Sequence

iTALE : interference Transcription Activator-Like effector

JA : Jasmonate

KRAB : Kruppel-Associated Box

LOB : Lateral Organ Boundaries

LPS : Lipopolysaccharides

LRR : Leucine Rich Repeat

MAMP : Microbe-Associated Molecular Pattern

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase

MAS : Marker-Assisted Selection

MLI: Machine Learning-trained Imaging

MLO : Mildew resistance locus

MU : methylumbelliferone

MUG : Methylumbelliferyl-β-D-Glucuronide Trihydrate

NB : Nucleotide Binding

NLR : Nod-Like Receptor

NLS : Nuclear Localization Signal

NO : monoxyde d'azote

OG : Oligogalacturonide

PAMP : Pathogen-Associated Molecular Pattern

PEP : Plant Elicitor Peptide

PG : Peptidoglycane

PIP : PAMP-Induced secreted Peptide

PPE : Passeport Phytosanitaire Européen

PR : Pathogenesis-Related

PR1: PATHOGENESIS-RELATED 1

PRR : Pattern Recognition Receptor

PTI : PAMP-Triggered Immunity

QRL : Quantitative Resistance Loci

QTL : Quantitative Trait Loci

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

RLCK : Receptor-Like Cytoplasmic Kinases

RLK : Receptor Like Kinase

RLP : Receptor Like Protein

RNA-Seq : RNA sequencing

ROS : espèces réactives de l'oxygène / Reactive Oxygen Species

RVD : Repeat Variable Di-residue

S : susceptibility genes

SA : acide salicylique / Salicylic Acid

SAR : Systemic Acquired Resistance

SCAR : Sequence Characterized Amplified Region

SID : mSin Interaction Domain

SNP : Single Nucleotide Polymorphisme

SRDX : EAR-repression domain

SSR : Simple Sequence Repeat

sST3 : signal de Sécrétion de Type III

SST3 / T3SS : Système de Sécrétion de Type III / Type III Secretion System

T1SS : Système de Sécrétion de Type I

T2SS : Système de Sécrétion de Type II

T4SS : Système de Sécrétion de Type IV

T6SS : Système de Sécrétion de Type VI

TAL : Transcription Activator-Like

tal : TALE-encoding gene

TALEN : TAL Effector Nucleases

TF : Transcription Factor

TIR : Toll Interleukine Receptor

TNL : TIR-NB-LRR

truncTAL : truncated Transcription Activator-Like effector

TSA : Trypticase Soy Agar

UPA : up-regulated by AvrBs3

wt : wild type

Xcf : *Xanthomonas citri* pv. *fuscans*

Xoc : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Xops : *Xanthomonas* outer protein

Xpp : *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*

Introduction

Les plantes représentent une part importante de la biosphère et jouent un rôle majeur dans l'écosystème terrestre. Elles nourrissent des millions d'espèces vivantes et sont cultivées par l'homme depuis plus de dix mille ans. Au cours de l'histoire de la culture des plantes, les maladies des plantes n'ont cessé de menacer les productions agricoles. Des épidémies sont encore aujourd'hui responsables de pertes économiques importantes et peuvent mettre en péril la sécurité alimentaire mondiale (Oerke, 2006). De nombreux produits phytosanitaires ont été utilisés pour lutter efficacement contre les pathogènes des plantes, cependant ces produits engendrent une pollution environnementale importante et mettent en péril la biodiversité (Baker *et al.*, 2013; Geiger *et al.*, 2010; Gilliom *et al.*, 2007; Özkara *et al.*, 2016). Dans ce contexte, il est donc nécessaire de mieux comprendre comment se développent les maladies des plantes afin de trouver des moyens de lutte respectueux de l'environnement et efficaces contre ces épidémies, telle que la lutte génétique (Dangl *et al.*, 2013). De plus, la compréhension des mécanismes régulant des interactions plantes-pathogènes permet d'acquérir des connaissances et expertises utiles pour lutter contre les maladies émergentes.

1. Mécanistique des interactions plantes-pathogènes

Comme beaucoup d'êtres vivants, les plantes sont en interaction constante avec des microorganismes qui constituent leur microbiote. Sur les feuilles des plantes, le microbiote est constitué de procaryotes tels que les bactéries et les archées, de virus, et d'eucaryotes comme les champignons, les oomycètes et les nématodes (Vacher *et al.*, 2016). Les bactéries composent la majeure partie de ces communautés et peuvent être épiphytes en se développant à la surface des feuilles, ou bien endophytes en se développant à l'intérieur des tissus foliaires (Vacher *et al.*, 2016). Bien que la grande majorité de ces bactéries ne soit pas pathogène, certaines d'entre elles peuvent être responsables d'épidémies importantes comme par exemple les bactéries appartenant aux genres *Pseudomonas* et *Xanthomonas* (Mansfield *et al.*, 2012).

On distingue classiquement trois types d'interactions plantes-pathogènes : l'interaction non-hôte, l'interaction hôte compatible et l'interaction hôte incompatible.

- L'interaction non-hôte correspond à une interaction durant laquelle l'ensemble des individus d'une espèce végétale résiste à un pathogène donné (Lee *et al.*, 2017). Il n'y a pas d'infection car les espèces sont incompatibles, et l'agent pathogène est dit avirulent ou hétérologue. Ce niveau de résistance permet de définir la gamme d'hôtes d'un pathogène.
- L'interaction hôte peut être subdivisée en deux catégories :
    - L'interaction hôte incompatible correspond à une interaction durant laquelle le pathogène est reconnu spécifiquement par certains génotypes ou individus de plante. La plante est alors résistante face à un pathogène avirulent.
    - L'interaction hôte compatible correspond à une interaction durant laquelle le pathogène est capable de contourner ou inhiber les défenses de la plante et de se multiplier de façon efficace dans les tissus végétaux. La plante est alors sensible face à un pathogène virulent, la maladie se développe et le pathogène peut se propager. L'intensité des symptômes causés lors d'une interaction compatible peut être variable en fonction du niveau d'agressivité du pathogène, ou de l'existence de résistances partielles plus ou moins fortes (Zenbayashi-Sawata *et al.*, 2005).

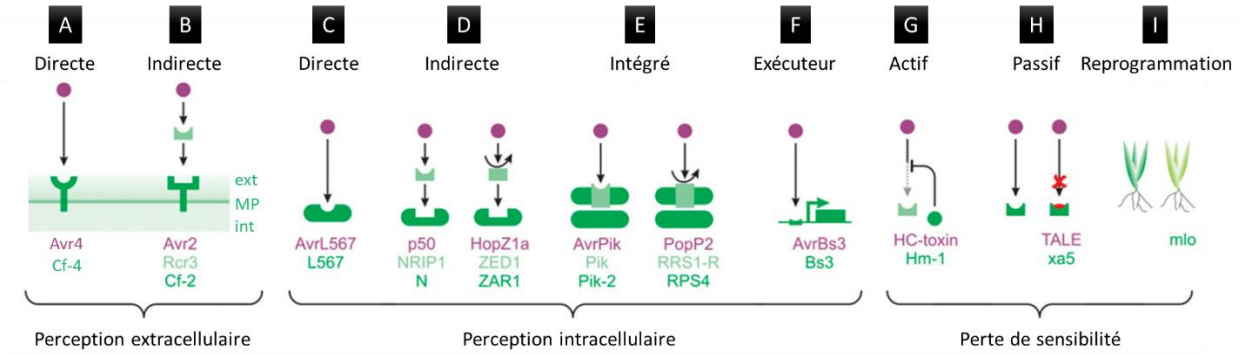


Figure 1. Différents mécanismes de reconnaissance des pathogènes par les plantes. Adapté de Kourelis and Van Der Hoorn, 2018. Les facteurs Avr peuvent être reconnus au niveau extracellulaire par interaction directe (**A**) ou indirecte (**B**) avec des récepteurs RLP (Receptor Like Protein) ou RLK (Receptor Like Kinase). Les facteurs Avr peuvent être reconnus au niveau intracellulaire de différentes manières : par interaction directe (**C**) ou indirecte (**D**) avec une protéine NLR (Nod-Like Receptor), ou bien par l'intermédiaire d'un domaine intégré sur une protéine NLR (**E**). Certaines protéines Avr (effecteurs TAL (Transcription Activator-Like)) peuvent induire la transcription de gènes de résistance (**F**). Certains gènes *R* peuvent inactiver des facteurs Avr de façon active (**G**) ou passive (**H**) ce qui engendre une perte de sensibilité. D'autres gènes *R* peuvent conduire à une reprogrammation de la plante pour induire une perte de sensibilité (**I**).

1.1. Les barrières préformées

Lorsqu'un pathogène arrive sur une plante, sa capacité de survie est mise à rude épreuve, car les plantes possèdent des barrières physiques et chimiques préformées pour se protéger de nombreux stress biotiques (Freeman and Beattie, 2008; Lee *et al.*, 2017). A cela s'ajoutent des contraintes environnementales comme les variations de température, les rayons lumineux ou encore la sécheresse.

Pour pouvoir se développer, les agents pathogènes doivent entrer dans les tissus de la plante. Tout d'abord, l'épiderme des plantes est recouvert d'une cuticule cireuse (Fernández *et al.*, 2016). Cette cuticule riche en acide gras a pour rôle de limiter l'évaporation de l'eau et la fuite des nutriments en dehors de la feuille, tout en empêchant la pénétration des pathogènes dans les espaces intercellulaires. De plus, elle rend la surface de la plante hydrophobe, ce qui défavorise les microorganismes ayant besoin d'humidité pour survivre. Les cellules végétales sont aussi entourées d'une paroi primaire, et souvent d'une paroi secondaire pouvant contenir de la lignine. Cette molécule particulièrement rigide bloque l'entrée de nombreux pathogènes (Eynck *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2011).

Les plantes peuvent aussi produire des composés toxiques pour les pathogènes appelés phytoanticipines (Lee *et al.*, 2017). Ces composés sont présents avant l'attaque, et sont bien souvent des métabolites secondaires de la famille des terpènes, des phénols ou encore des alcaloïdes. Par exemple, les huiles essentielles peuvent être stockées dans les trichomes glandulaires et peuvent avoir une action antifongique et antibiotique (Kamatou *et al.*, 2006; Łaźniewska *et al.*, 2012).

Malgré toutes ces défenses préformées, certains pathogènes parviennent à survivre et se multiplier sur les plantes en contournant ces défenses grâce à diverses adaptations. Par exemple, certaines plantes produisent des saponines comme l'α-tomatine ou l'avenacine, capables de perturber les membranes lipidiques fongiques (Ito *et al.*, 2007), et certains microorganismes possèdent les enzymes nécessaires à la détoxification de ces molécules toxiques, comme la tomatinase capable de dégrader l'α-tomatine de la tomate ou encore l'avenacinase pouvant dégrader l'avenacine produite par le blé (Bowyer *et al.*, 1995; Ökmen *et al.*, 2013). Certains champignons sont également capables de percer la cutine de façon enzymatique ou mécanique, tandis que les bactéries profitent des ouvertures naturelles ou des blessures de la plante pour pouvoir s'installer dans les tissus (Melotto *et al.*, 2008; Ryder and Talbot, 2015).

Suite au contournement des défenses constitutives de la plante, les pathogènes vont chercher à entrer dans les tissus végétaux. Cependant, dès leur entrée dans l'apoplasme ils vont être perçus par la plante ce qui va déclencher des défenses.

Tableau 1. Liste non exhaustive de PRR à action connue.

PRR		Eliciteur		Espèce végétale	Références
Famille	**Nom**	**Famille**	**Nom**		
Détection de MAMP					
RLK LRR	FLS2	Flagelline	flg22	*A. thaliana, N. benthamiana, O. sativa, S. lycopersicum, V. vinifera*	Felix *et al.*, 1999; Gómez-Gómez and Boller, 2000; Hann and Rathjen, 2007; Robatzek *et al.*, 2007; Takai *et al.*, 2008; Trdá *et al.*, 2014
	FLS3	Flagelline	flgII-28	*S. pimpinellifolium*	Hind *et al.*, 2016
	XA21	Tyrosine sulphotransférase	RaxX	*O. longistaminata*	Ronald and Joe, 2018; Song *et al.*, 1995
	EFR	Facteur d'élongation Tu	EF-Tu	*A. thaliana*	Kunze *et al.*, 2004; Zipfel *et al.*, 2006
	XPS1	Xanthine/uracil permease	Xup25	*A. thaliana*	Mott *et al.*, 2016
	CORE	Peptide	csp22	*S. lycopersicum*	Wang *et al.*, 2016
	NbCSPR	Peptide	csp22	*N. benthamiana*	Saur *et al.*, 2016
RLK LysM	CERK1	Chitine	Chitine	*A. thaliana*	Miya *et al.*, 2007; Shimizu *et al.*, 2010
	LYK5	Chitine	Chitine	*A. thaliana*	Cao *et al.*, 2014
RLK G-Lec	LORE	LPS	LPS	*A. thaliana*	Ranf *et al.*, 2015
RLP LRR	Ve1	Peptide natriurétique	Ave1	*S. lycopersicum*	De Jonge *et al.*, 2012; Kawchuk *et al.*, 2001
	LeEix2	Xylanase	EIX	*S. pennellii*	Mily Ron and Adi Avni, 2004
	RLP1/ReMAX	Protéine	eMax	*A. thaliana*	Jehle *et al.*, 2013
	RLP23	Protéine	nlp20	*A. thaliana*	Albert *et al.*, 2015
	RLP30	Protéine	SCFE1	*A. thaliana*	Zhang *et al.*, 2013
	RLP42/RBPG1	EPG	EPG	*A. thaliana*	Zhang *et al.*, 2014
	RLP85/ELR	Protéine	Elicitines	*S. microdontum*	Du *et al.*, 2015
	CSPR	Peptide	csp22	*N. benthamiana*	Saur *et al.*, 2016
	CuRe1	Peptide	facteur cuscuta	*S. lycopersicum*	Hegenauer *et al.*, 2016
RLP LysM	CEBiP	Chitine	Chitine	*O. sativa*	Kaku *et al.*, 2006; Shimizu *et al.*, 2010
	LYP4, LYP6	PG et chitine	PG et chitine	*O. sativa*	Liu *et al.*, 2012
	LYM2	Chitine	Chitine	*A. thaliana*	Faulkner *et al.*, 2013
	LYM1, LYM3	PG et chitine	PG et chitine	*A. thaliana*	Willmann *et al.*, 2011
Détection de DAMP					
RLK LRR	PEPR	Peptide	Pep1	*A. thaliana, S. lycopersicum, Z. mays*	Huffaker *et al.*, 2006; Lori *et al.*, 2015; Yamaguchi *et al.*, 2010
	RLK7	Peptide	PIP	*A. thaliana*	Hou *et al.*, 2014
	SYR1/2	Peptide	Systemine	*S. lycopersicum*	Wang *et al.*, 2018b
	PRK5	Peptide	GRIp	*A. thaliana*	Wrzaczek *et al.*, 2015
RLK WAK	WAK1	Pectine	OG	*A. thaliana*	Brutus *et al.*, 2010; Kohorn *et al.*, 2009; Nothnagel *et al.*, 1983
RLK L-LEC	DORN1	Nucléotide	eATP	*A. thaliana*	Choi *et al.*, 2014
Détection d'effecteurs					
RLK G-Lec	I-3	Effecteur	Avr3	*S. pennellii*	Catanzariti *et al.*, 2015
RLP LRR	Cf-2	Effecteur	Avr2 détécté par Rcr3	*S. pimpinellifolium*	Dixon *et al.*, 1996; Rooney *et al.*, 2005
	Cf-4	Effecteur	Avr4	*S. hirsutum*	Thomas *et al.*, 1997
	Cf-5	Effecteur	Avr5	*S. lycopersicum var. cerasiforme*	Dixon *et al.*, 1998
	Cf-9	Effecteur	Avr9 détécté par HABS	*S. pimpinellifolium*	Jones *et al.*, 1994; Luderer *et al.*, 2001
	RLM2	Effecteur	AvrLm1	*B. napus*	Larkan *et al.*, 2013, 2015
	I	Effecteur	Avr1	*S. pimpinellifolium*	Catanzariti *et al.*, 2017

RLK : Récepteur Like-Kinase, RLP : Récepteur Like-Protéine, LRR : Leucine Rich Repeat, LPS : Lipopolysaccharides, PG : Peptidoglycanes, EPG : Endopolygalaturonases et OG : Oligogalacturonides.

1.2. La détection des pathogènes

Pour reconnaitre les pathogènes, les plantes possèdent diverses protéines de résistance regroupées sous le terme protéines *R* (Kourelis and Van Der Hoorn, 2018). Les protéines *R* sont majoritairement représentées par deux groupes. Le premier groupe correspond à des récepteurs transmembranaires appelés PRR pour Pattern Recognition Receptors (Boutrot and Zipfel, 2017), et le second groupe correspond à des récepteurs NLR pour Nod-Like Receptor. Les PRR sont localisés sur la membrane plasmique tandis que les NLR sont localisés au niveau intracellulaire, de sorte que l'extérieur comme l'intérieur des cellules végétales soient sous surveillance.

A ce jour, plusieurs centaines de gènes *R* ont été clonés (328 en 2018) dont environ la moitié (128) ont un mécanisme d'action connu. L'étude des gènes *R* a permis de distinguer neuf mécanismes d'action de ces gènes de résistance, qui peuvent être regroupés en trois grands groupes (Kourelis and Van Der Hoorn, 2018, Figure 1). Le premier groupe correspond aux mécanismes de reconnaissance extracellulaire directe ou indirecte, médiés par les PRR (Tableau 1). Le second groupe représente des mécanismes de reconnaissance intracellulaire principalement médiés par des NLR. Enfin, le troisième groupe correspond à la résistance par perte de sensibilité, aujourd'hui restreinte à quelques cas particuliers.

1.2.1. La reconnaissance d'éliciteurs extracellulaires

La reconnaissance des pathogènes au niveau extracellulaire est médiée par les PRR, qui sont représentés par deux familles de protéines : les Récepteurs Like Kinases (RLK) et les Récepteurs Like Protéines (RLP) (Tableau 1, Figure 1). Les PRR sont tous composés d'un domaine extracellulaire pouvant se lier à un ligand et d'un domaine transmembranaire pour s'insérer dans la membrane plasmique (Boutrot and Zipfel, 2017). Les RLK possèdent un domaine kinase intracellulaire, tandis que les RLP ne présentent pas de domaine de signalisation intracellulaire connu (Macho and Zipfel, 2014). Grâce à leur domaine extracellulaire, les PRR sont capables de percevoir des molécules élicitrices qui témoignent de la présence de pathogènes à la surface de la plante (Boller and Felix, 2009).

Les PAMP ou MAMP (anciennement appelés Pathogen- et désormais appelés Microbe-Associated Molecular Pattern) correspondent à des molécules très conservées ayant une signature caractéristique des microorganismes. Ils sont généralement importants pour la survie des microorganismes, ce qui les rend difficilement modifiables sans risquer une perte de fitness. L'un des MAMP les plus connu est le peptide flg22 de la flagelline qui compose le flagelle et qui peut être reconnu par le récepteur RLK FLS2 présent chez diverses plantes (Tableau 1). Des composés pariétaux comme les peptidoglycanes chez les bactéries ou la chitine chez les champignons peuvent être dégradés par des enzymes végétales (lysozymes, chitinases), ce qui libère des MAMP reconnus par des PRR (Liu *et al.*, 2014; Yu *et al.*, 2017). Les plantes peuvent aussi reconnaître les endopolygalacturonases des champignons qui ont pour rôle de dégrader la pectine, les lipopolysaccharides des bactéries ou encore divers peptides de microorganismes (Tableau 1).

Les molécules qui dérivent de la plante suite à des dommages causés par les microorganismes (DAMP : Danger- ou Damage-Associated Molecular Pattern) peuvent aussi être perçues par les PRR (Choi and Klessig, 2016; Hou *et al.*, 2019). Par exemple, les petits peptides PEP (Plant Elicitor Peptides) ou PIP (PAMP-Induced secreted Peptides) peuvent être des éliciteurs des défenses, tout comme les oligogalacturonides qui sont des dérivés de pectines libérés par l'activité catalytique de certains champignons (Ferrari *et al.*, 2007; Hou *et al.*, 2014).

Enfin, les effecteurs au sens large correspondent à des molécules sécrétées par des microorganismes qui manipulent une structure ou une fonction végétale (Kamoun, 2006; Toruno *et al.*, 2016; Uhse and Djamei, 2018). Ils peuvent aussi être reconnus au niveau extracellulaire par des RLP et des RLK, comme c'est le cas par exemple des peptides Avr9, Avr2 et Avr4 qui sont sécrétés par des champignons (Tableau 1).

Le plus souvent, les MAMP et DAMP interagissent de façon directe avec le domaine extracellulaire des PRR, tandis que les effecteurs peuvent interagir directement ou indirectement avec les PRR (Figure 1A et B). Par exemple, le RLP Cf-4 est supposé interagir directement avec l'effecteur Avr4, tandis que le RLP Cf-2 reconnaît l'effecteur Avr2 lorsque celui-ci interagit avec la protéase Rcr3 (Rooney *et al.*, 2005; Thomas *et al.*, 1997; Toruno *et al.*, 2016). L'activation des PRR est suivie d'une dimérisation des récepteurs (en homodimère ou hétérodimère avec un co-récepteur), puis des événements de phosphorylation vont permettre de déclencher des défenses souvent regroupées sous le terme de PAMP-Triggered Immunity (PTI) (Macho and Zipfel, 2014, cf. parties 1.3 et 1.4).

1.2.2. La reconnaissance d'éliciteurs intracellulaires

Lors de leur interaction avec la cellule végétale, les pathogènes peuvent injecter des effecteurs dans le cytoplasme de la plante afin de bloquer les défenses (Boller and Felix, 2009). Cependant, ces effecteurs peuvent être reconnus au niveau intracellulaire par des protéines NLR, ce qui déclenche des défenses regroupées sous le terme ETI pour Effector-Triggered Immunity. Les NLR se caractérisent par la présence d'un domaine NB (Nucleotide Binding) en région centrale et d'un domaine LRR (Leucine Rich Repeat) au niveau C terminal. Il existe deux grandes sous-familles de NLR : les TNL (TIR-NB-LRR) et les CNL (CC-NB-LRR) caractérisés par la présence d'un domaine TIR (Toll Interleukine Receptor) ou CC (Coiled Coil) en N terminal respectivement.

La reconnaissance des effecteurs par les NLR peut s'effectuer par interaction directe avec l'effecteur (Figure 1C). Par exemple, l'effecteur ATR1 de *Hyaloperospora arabidopsis* peut interagir avec le NLR RPP1 d'*Arabidopsis* (Krasileva *et al.*, 2010), tandis que l'effecteur AvrL567 de *Melanospora lini* peut interagir avec les NLR L5, L6 et L7 du lin (Dodds *et al.*, 2006). Bien que ce mécanisme soit le plus simple à envisager, assez peu de NLR fonctionnent de cette manière.

La majorité des NLR interagissent de façon indirecte avec les effecteurs (Van Der Hoorn and Kamoun, 2008, Figure 1D). Par exemple, les effecteurs AvrRpm1 et AvrB de *Pseudomonas syringae* sont capables de phosphoryler la protéine de garde RIN4, ce qui conduit à l'activation

du NLR RPM1 d'*Arabidopsis* (Mackey *et al.*, 2002). Également, la protéine RIN4 peut être clivée par AvrRpt2 ce qui active le NLR RPS2 et déclenche les défenses (Axtell and Staskawicz, 2003; Day *et al.*, 2005). De manière intéressante, la phosphorylation de RIN4 en absence de RPM1 conduit à une régulation négative de l'immunité, ce qui voudrait dire que RIN4 est une protéine de sensibilité ciblée par différents effecteurs (Lee *et al.*, 2015). Cependant, le clivage de RIN4 par AvrRpt2 en absence de RPS2 ne permet pas un gain d'agressivité (Lim and Kunkel, 2004). Ce type d'interactions est à l'origine des concepts de protéines de gardes et protéines leurres (Van Der Biezen and Jones, 1998; Van Der Hoorn and Kamoun, 2008). Dans ce modèle, les protéines de garde ou les leurres sont gardés par des NLR, et la modification de ces protéines par les effecteurs conduit à l'activation du NLR. Les protéines de garde correspondraient à des cibles réelles des effecteurs permettant un gain d'agressivité, tandis que les leurres seraient des protéines mimant les cibles réelles des effecteurs afin de les piéger. Pour valider le fait qu'une protéine est un leurre il faut montrer que la modification de cette protéine par l'effecteur n'engendre pas de gain d'agressivité. Par ailleurs, un NLR peut garder plusieurs protéines. Par exemple, le NLR ZAR1 d'*Arabidopsis thaliana* peut reconnaître les effecteurs HopZ1 de *Pseudomonas syringae* et XopAC de *Xanthomonas campestris* par l'intermédiaire des protéines de garde ZED1 et PBL2 respectivement (Lewis *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015b). Que ce soit pour RPM1 ou ZAR1, le mécanisme de reconnaissance indirecte semble particulièrement intéressant en terme évolutif pour les plantes, car il permet de détecter de multiples effecteurs de différents pathogènes à l'aide d'un seul NLR.

Enfin, certains NLR portent des domaines intégrés (ID : Integrated Domain) pouvant être ciblés par des effecteurs ce qui déclenche les défenses (Kourelis and Van Der Hoorn, 2018; Kroj *et al.*, 2016, Figure 1E). Ces domaines intégrés correspondraient à des leurres pour détecter la présence de l'effecteur. Ces NLR seraient alors activés par interaction directe entre le domaine intégré et l'effecteur, et par l'activité enzymatique de l'effecteur sur le domaine intégré du NLR.

De façon plus singulière, la transcription de certains gènes de résistance peut être induite par les effecteurs TAL (Transcription Activator-Like) des bactéries du genre *Xanthomonas* (Zhang *et al.*, 2015a, Figure 1F). Les gènes de résistance impliqués dans ce mécanisme sont appelés gènes exécuteurs, et n'appartiennent pas aux PRR ou NLR. Ce genre de résistance représente un cas particulier, et est détaillé dans la partie 2.2.1.3.3.

1.2.3. Résistance par perte de sensibilité

Enfin, les plantes peuvent aussi résister aux pathogènes par un mécanisme de perte de sensibilité (Figure 1G, 1H et 1I). Cette perte de sensibilité peut être médiée activement ou passivement. Dans le cas d'un mécanisme actif, certains gènes de résistance vont être capables de désarmer le pathogène en bloquant l'effet d'un effecteur, comme par exemple le gène de résistance *Hm1* du maïs qui détoxifie la toxine fongique HC (Johal and Briggs, 1992). La perte de sensibilité peut aussi se faire de façon passive à l'aide de gènes de résistance récessifs. Par exemple, la mutation d'un facteur d'initiation de la traduction permet de bloquer la réplication de certains virus (Sato *et al.*, 2005; Truniger and Aranda, 2009). Enfin, la perte de sensibilité d'une plante à un pathogène peut aussi être due à la mutation d'un represseur majeur de voies de défenses,

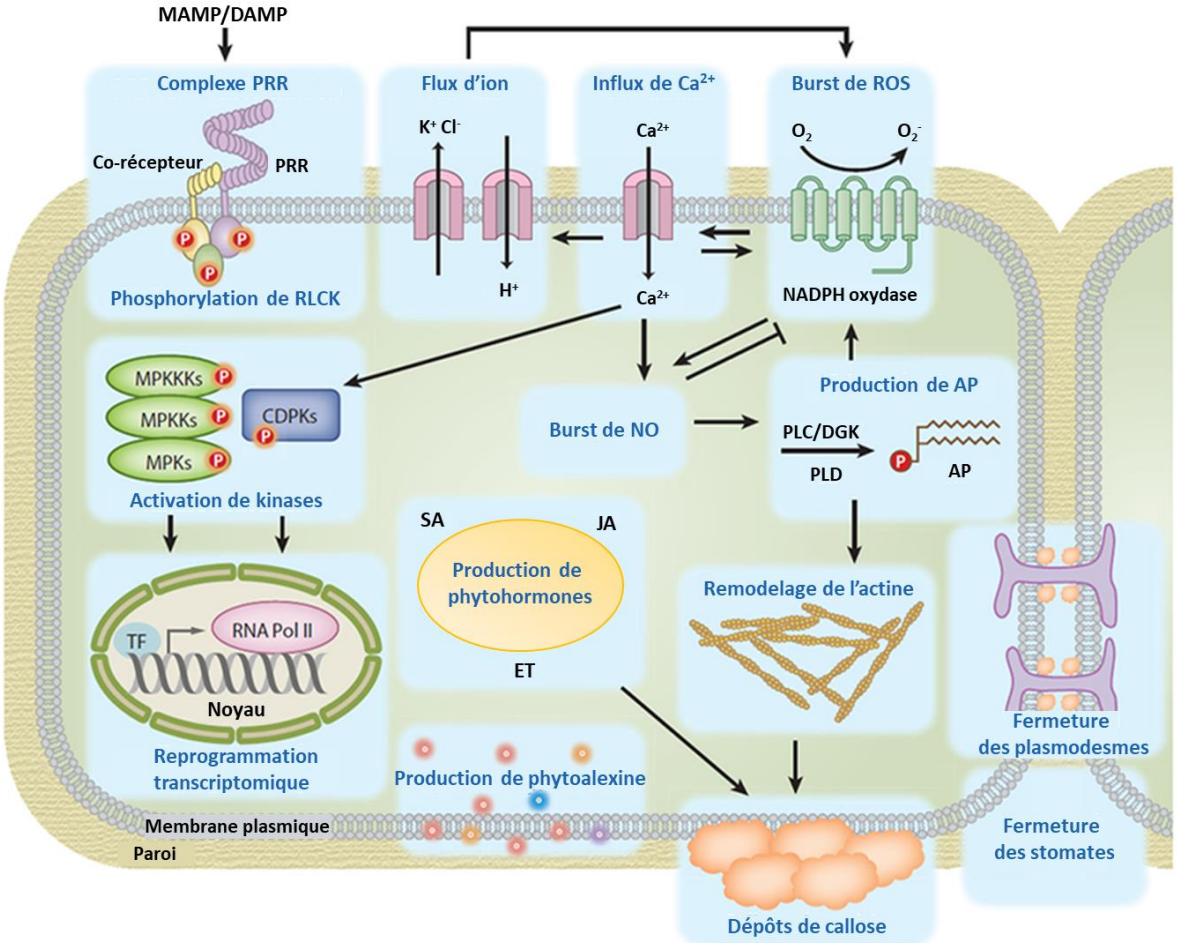


Figure 2. Réponses cellulaires et physiologiques déclenchées lors de la reconnaissance d'un pathogène par la plante. Adapté de Yu *et al.*, 2017. La reconnaissance d'un MAMP (Microbe-Associated Molecular Pattern) ou d'un DAMP (Damage-Associated Molecular Pattern) par un PRR (Pattern Recognition Receptor) s'accompagne de la phosphorylation rapide du PRR et de RLCK (Receptor-Like Cytoplasmic Kinases). L'activation de PRR va aussi activer des voies MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) et des CDPK (Calcium-Dependent Protein Kinases), qui vont réguler la transcription de gènes *via* des TF (Transcription Factors) et la mise en place d'autres processus cellulaires. La concentration intracellulaire d'ion calcium Ca^{2+} augmente. Un flux d'ion permet de dépolariser la membrane plasmique et d'alcaliniser le milieu extracellulaire. Des espèces réactives de l'oxygène (ROS), du monoxyde d'azote (NO) et de l'acide phosphatidique (AP) sont produits. Il y a un remodellage de l'actine, une fermeture des stomates et des plasmodesmes, un dépôt de callose et la production de phytoalexines et d'hormones (SA : acide salicylique, JA : Jasmonate, ET : Ethylène). Collectivement ces réponses contribuent à la résistance contre divers pathogènes. Les connexions potentielles entre ces différentes réponses sont indiquées par des flèches pour les régulations positives et par des lignes en forme de T pour les régulations négatives.

comme c'est le cas de l'allèle *MLO*. Ainsi, les plantes portant l'allèle recessif *mlo* sont résistantes au mildiou (Humphry *et al.*, 2006, 2010; Nekrasov *et al.*, 2017).

1.3. La transduction du signal

1.3.1. La production de molécules signal

La reconnaissance du pathogène par des PRR ou des NLR cytoplasmiques va déclencher une cascade de signalisation intracellulaire (Meng and Zhang, 2013; Yu *et al.*, 2017). Quelques secondes après la reconnaissance d'un agent pathogène, la concentration d'ion calcium Ca^{2+} va augmenter de façon très importante, jusqu'à 10^4 fois, dans le cytoplasme des cellules (Ranf *et al.*, 2011, Figure 2). Ce signal calcique est le point de départ du déclenchement d'autres réponses cellulaires. En effet, suite à ce signal, des flux d'ions vont se mettre en place induisant une dépolarisation membranaire et une alcalinisation du milieu extracellulaire (Jeworutzki *et al.*, 2010). Différentes enzymes vont produire des espèces réactives de l'oxygène (ROS : Reactive Oxygen Species) particulièrement toxiques pour les pathogènes, telles que l'ion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyl ($^{\bullet}OH$) (Scheler *et al.*, 2013; Torres *et al.*, 2006). Ces ROS peuvent être produites à l'extérieur de la cellule par des enzymes localisées sur la membrane plasmique, afin d'atteindre rapidement les pathogènes et participer au renforcement des parois. Les ROS peuvent aussi être produites dans différents organites comme les chloroplastes, les mitochondries ou encore les peroxysomes (Liu and He, 2017). En plus de leur action toxique pour le pathogène, ces ROS participent à la transduction du signal de reconnaissance du pathogène. Les cellules attaquées vont aussi produire du monoxyde d'azote (NO). Ce composé est une molécule signal gazeuse qui peut rapidement se diffuser au sein de la plante, et induire la synthèse d'acide phosphatidique (AP). L'AP est également une molécule signal impliquée dans la régulation des ROS, l'activation de kinases, l'induction de gènes ou encore le remodelage de l'actine (Testerink and Munnik, 2011).

1.3.2. L'induction de voies MAPK

Suite au signal calcique et à la production de ROS, la cascade de signalisation continue, ce qui implique généralement la phosphorylation ou la déphosphorylation de nombreuses protéines intracellulaires comme des RLCK (Receptor Like-Cytoplasmique Kinases), des protéines G, des CDPK (Calcium Dependant Protein Kinases) ou encore des MAPK (Motigen-Activated Protein Kinases) (Yu *et al.*, 2017). Toutes ces protéines peuvent activer de voies MAPK responsables de l'activation de gènes de défenses *via* la régulation de facteurs de transcription ou de l'ARN polymérase (Li *et al.*, 2014a; Mao *et al.*, 2011). Dans certains cas, l'activation de gènes de défenses peut être indépendante de voies MAPK. En effet, certaines protéines NLR peuvent être localisées dans le noyau des cellules végétales, et s'associer directement à des facteurs de transcription afin de modifier l'expression de gènes importants pour la mise en place des défenses. Par exemple, après reconnaissance du facteur d'avirulence P50 de *Pseudomonas syringae*, le NLR N du tabac, peut interagir avec le facteur de transcription SPL6 afin d'induire la transcription de gènes de défense (Burch-Smith *et al.*, 2007; Padmanabhan *et al.*, 2013).

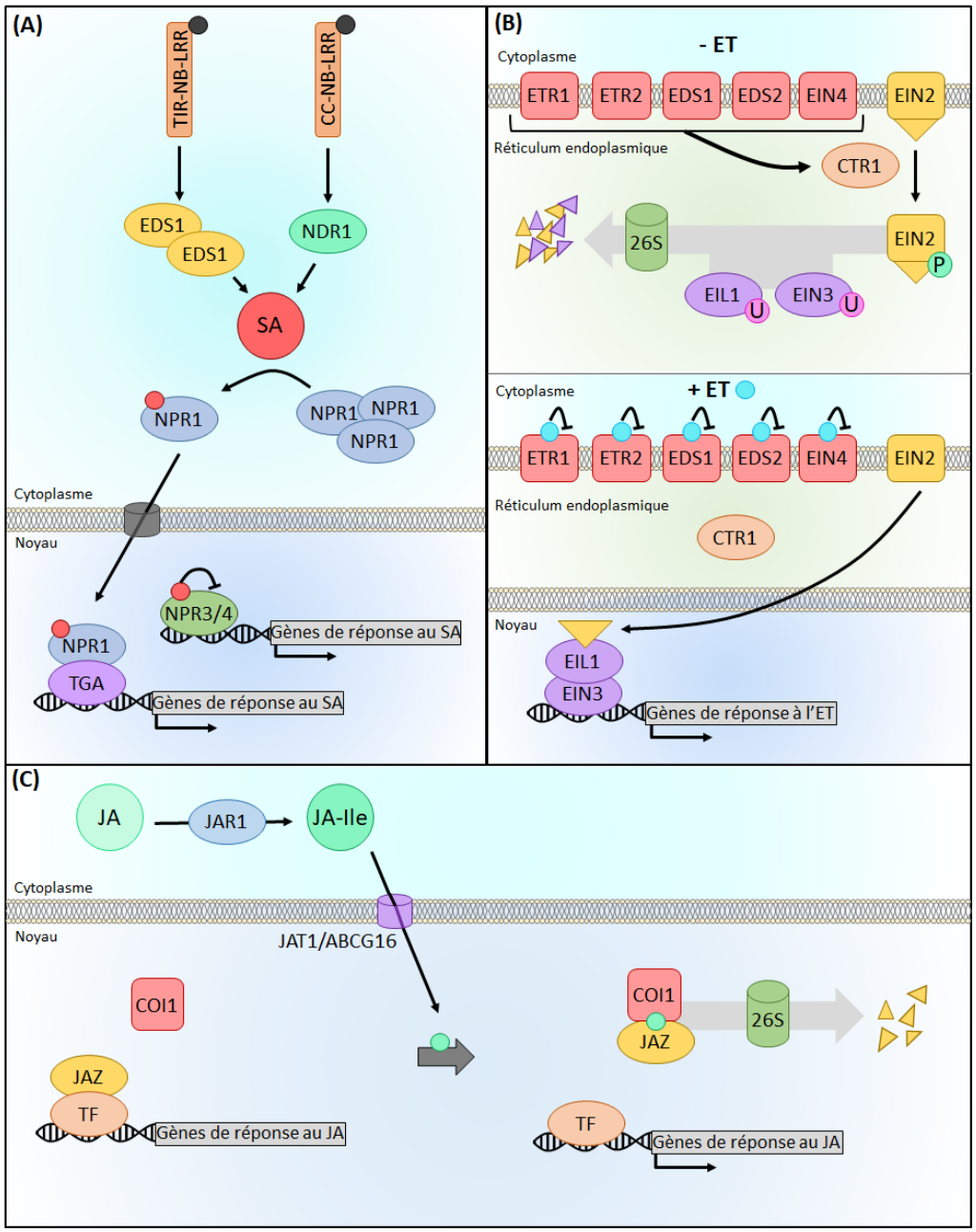


Figure 3. Voies de signalisation hormonale impliquées dans la mise en place de défenses. Suite à la reconnaissance de facteurs d'avirulence par des protéines R les voies de l'acide salicylique (SA) (**A**), de l'éthylène (ET) (**B**) ou du jasmonate (JA) (**C**) peuvent s'activer. La production de SA peut être induite par EDS1 et NDR1. Le SA peut monomériser NPR1, ce qui conduit à son entrée dans le noyau et à l'induction des gènes de défense *via* des facteurs de transcription TGA. Le SA peut aussi inhiber la répression de gènes de défense par NPR3 et 4. En absence d'ET les différents récepteurs de l'ET (ETR1, ETR2, EDS1, EDS2 et EIN4) activent CTR1 qui peut alors phosphoryler EIN2. La phosphorylation de EIN2 et l'ubiquitination de EIL1 et EIL3 conduit à leur dégradation par le protéasome 26S. En présence d'ET, les récepteurs sont inhibés et la partie C terminale (triangle jaune) de EIN2 est clivée et migre vers le noyau où elle induit EIL1 et EIN3. Ces facteurs de transcription induisent alors la transcription de gènes de défense. Le JA peut être conjugué à de l'isoleucine (Ja-Ile) par la protéine JAR1. Ja-Ile peut alors entrer dans le noyau par le transporteur JAT1/ABCG16, afin de fixer JAZ et COI1. Cette interaction va permettre de dégrader le répresseur JAZ, et d'induire la transcription de gènes de défense.

L'induction de ces gènes va permettre la production de composés antimicrobiens comme les phytoalexines réputées pour avoir une action antifongique et/ou antibiotique. Des voies hormonales vont aussi être induites, notamment les voies de l'éthylène (ET), du jasmonate (JA) et de l'acide salicylique (SA).

1.3.3. L'induction des voies hormonales

Les trois principales hormones impliquées dans les défenses sont le SA, l'ET et le JA (Bari and Jones, 2009). Classiquement, la voie du SA est considérée comme efficace contre des pathogènes biotrophes capables d'exploiter les cellules végétales vivantes, tandis que les voies du JA et de l'ET sont efficaces contre des pathogènes nécrotrophes induisant la mort des cellules pour pouvoir se nourrir (Bürger and Chory, 2019). La voie du SA est décrite comme antagoniste des voies de l'ET et du JA qui seraient synergiques (Spoel *et al.*, 2007; Thomma *et al.*, 1998, 1999).

L'activation d'un CC-NB-LRR ou d'un TIR-NB-LRR peut conduire à l'activation de NDR1 ou EDS1 respectivement (Aarts *et al.*, 1998, Figure 3A). Ces protéines vont déclencher la production de SA dans le chloroplaste (Strawn *et al.*, 2007). Le SA va alors pouvoir agir comme protéine signal en induisant la monomérisation de NPR1 (Tada *et al.*, 2008). Sous cette forme, NPR1 peut entrer dans le noyau et interagir avec les facteurs de transcription TGA, permettant ainsi l'activation de gènes associés aux défenses (Kesarwani *et al.*, 2007). De plus, le SA peut aussi bloquer l'action des répresseurs NPR3/4 afin d'induire la transcription de d'autres gènes de défenses (Ding *et al.*, 2018; Fu *et al.*, 2012). Parmi les nombreux gènes induits par le SA il y a des facteurs de transcription de type WRKY et des protéines PR (Pathogenesis-Related), dont la protéine PR-1 qui constitue un marqueur de la voie du SA (Vlot *et al.*, 2009). L'induction de la voie du SA va aussi déclencher la résistance systémique acquise (SAR : Systemic Acquired Resistance), qui correspond à une résistance puissante et généralisée dans toute la plante (Ádám *et al.*, 2018; Mishina and Zeier, 2007; Ross, 1961). Une fois la SAR induite, la plante est mieux protégée contre une infection ultérieure.

La reconnaissance d'un pathogène peut également déclencher la production d'ET à partir de méthionine (Yang *et al.*, 1966). En absence d'ET les récepteurs ETR1, ETR2, ERS1, ERS2 et EIN4 situés sur la membrane du réticulum endoplasmique agissent comme des répresseurs de la voie de l'ET (Binder, 2020, Figure 3B). Ces récepteurs activent la protéine CTR1, qui peut alors phosphoryler la protéine EIN2 ce qui conduit à son inactivation et sa dégradation (Ju *et al.*, 2012; Kieber *et al.*, 1993). L'interaction entre l'ET et ces récepteurs permet d'inactiver la protéine CTR1, ce qui va induire le clivage de la partie C terminale de EIN2, qui va entrer dans le noyau et activer des facteurs de transcription comme EIN3 ou EIL1. Ces facteurs de transcription vont alors induire l'expression des gènes *ERF* qui à leur tour pourront induire les gènes de défenses liés à l'ET (Solano *et al.*, 1998).

Enfin, la voie du JA peut aussi être active. La production de JA se déroule dans le chloroplaste, le peroxysome et le cytoplasme à partir d'acide linolénique (Ruan *et al.*, 2019). Le JA produit peut circuler à travers la membrane plasmique et l'enveloppe nucléaire grâce au transporteur JAT1/ABCG16 (Li *et al.*, 2017, Figure 3C). Dans le cytoplasme, le JA peut être conjugué à de l'isoleucine pour former le JA-Ile, qui correspond à la forme active du JA. Le JA-Ile peut entrer

dans le noyau et s'associer au complexe JAZ-COI1, ce qui conduit à l'ubiquitination puis la dégradation de JAZ par le protéasome 26S (Ruan *et al.*, 2019). En absence de JA-Ile, le complexe JAZ-COI1 inhibe des facteurs de transcription MYC, ce qui conduit à l'inhibition des gènes de défenses (Fernández-Calvo *et al.*, 2011). La dégradation de ce complexe permet alors de libérer les facteurs de transcription MYC qui peuvent induire la transcription des gènes de défenses en réponse au JA.

1.4. La mise en place des défenses

Enfin, pour éviter la propagation du pathogène dans la plante, une heure après le début de l'infection les plantes commencent à fermer leurs stomates pour limiter l'entrée du pathogène (Melotto *et al.*, 2006). La fermeture des stomates peut être régulée par le NO, les ROS, l'ET, l'ABA ou encore les oxylipines (Arnaud and Hwang, 2015). Les cellules vont également renforcer leur paroi et fermer leurs plasmodesmes. Pour cela, il peut y avoir formation de bouchons de callose au niveau des plasmodesmes ou de papilles de callose entre la paroi et la membrane plasmique (Bellincampi *et al.*, 2014; Luna *et al.*, 2011).

Les plantes vont aussi synthétiser des défenses chimiques contre les pathogènes, telles que des phytoalexines ou des protéines PR qui ont une activité antimicrobienne. Les phytoalexines représentent des petites molécules du métabolisme secondaire qui ont une action antimicrobienne et dont la production est induite par un stress (Ahuja *et al.*, 2012). Par exemple, les protéines responsables de la synthèse de camalexine sont induites chez *Arabidopsis* par des MAMP comme le peptide Flg22 (Denoux *et al.*, 2008). Les protéines PR sont définies comme des protéines induites dans plusieurs pathosystème en cas d'infection (Sels *et al.*, 2008). En 2008, 17 familles de PR protéines ont été définies avec des propriétés enzymatiques diverses comme des chitinase, des glucanases, des peroxidases ou encore des endoprotéinases qui ont une activité antimicrobienne à travers leur activité enzymatique (Sels *et al.*, 2008).

La réponse hypersensible (HR : hypersensitive response) est un phénomène considéré comme caractéristique de l'ETI. Cette réponse correspond à une mort cellulaire localisée au site d'infection, souvent déclenchée par une forte oxydation liée à la production de ROS. La mort cellulaire des zones touchées par le pathogène permet de contenir l'infection et la progression du pathogène vers des tissus sains (Stakman, 1915). Ces ROS peuvent être produites par l'enzyme NOX (NADPH oxydase) localisée au niveau de la membrane plasmique, ou bien par des organites comme les chloroplastes, les mitochondries ou encore les peroxysomes (Liu and He, 2017; Zurbriggen *et al.*, 2010).

1.5. Le contournement des défenses

La PTI et l'ETI sont efficaces contre de nombreux pathogènes. Cependant, certains parviennent à contourner ces mécanismes en s'adaptant à l'hôte.

Par exemple, pour éviter l'induction des PRR, les pathogènes peuvent essayer de modifier leurs MAMP, comme par exemple *Pseudomonas aeruginosa* qui sécrète la protéase AprA capable de dégrader le flagelle pour éviter la reconnaissance de la flagelline par FLS2 (Pel *et al.*, 2014).

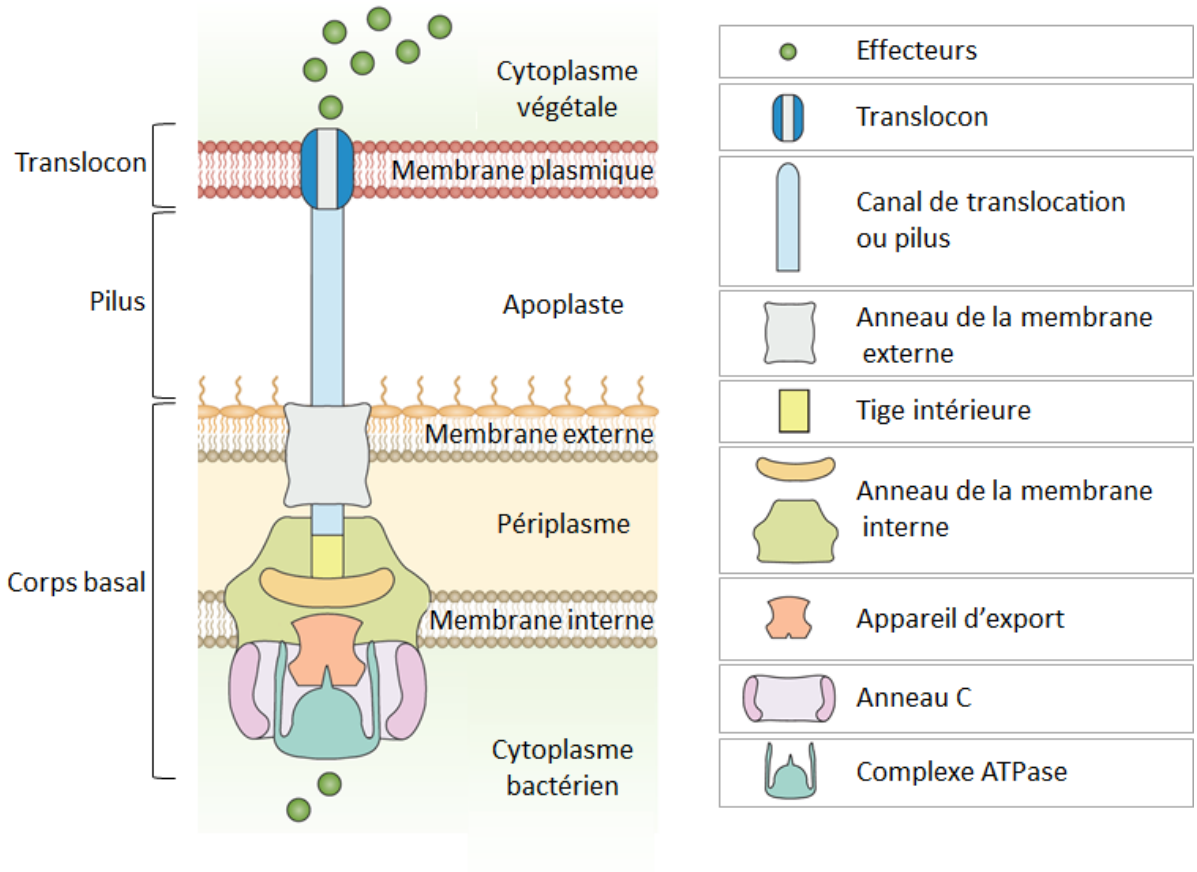


Figure 4. Structure du système de sécrétion de type III (SST3) bactérien. Adapté de Deng *et al.*, 2017. Le SST3 permet d'injecter des effecteurs de type III (ET3) à l'intérieur de la cellule végétale, il est composé d'un corps basal comprenant de nombreuses protéines, d'un pilus constituant le canal de translocation et d'un translocon pouvant s'intégrer dans la membrane plasmique végétale.

Les pathogènes peuvent aussi se doter d'effecteurs capables de bloquer les défenses pour induire l'ETS (Effector-triggered Susceptibility). Les effecteurs peuvent agir dans l'espace extracellulaire, mais agissent préférentiellement à l'intérieur des cellules. Ce sont très souvent des protéines, mais il peut aussi s'agir de toxines ou de polysaccharides (Boller and Felix, 2009). Pour injecter les effecteurs à l'intérieur des cellules végétales, les pathogènes peuvent disposer de structures spécifiques, comme par exemple les nématodes qui possèdent un stylet et les bactéries qui ont un système de sécrétion de type III (SST3) (Mitchum *et al.*, 2013). Le SST3 bactérien a largement été étudié car c'est un acteur majeur de l'ETS (Büttner and He, 2009). Cette seringue moléculaire est composée d'un corps basal ancré dans les membranes bactériennes, d'un pilus formant un canal et d'un translocon pouvant s'intégrer dans la membrane plasmique végétale (Figure 4). Les composants de ce système sont codés par des gènes nommés *hrp* (Hypersensitive Reaction and Pathogenicity) inductibles lorsque la bactérie est en contact avec la plante (Mansfield, 2009). Les champignons possèdent eux aussi des effecteurs pouvant agir au niveau intracellulaire, cependant le mécanisme permettant leur internalisation n'est pas encore très bien compris (Lo Presti and Kahmann, 2017; Petre and Kamoun, 2014).

Les microorganismes sont dotés de nombreux effecteurs (entre 20 et 100 ET3 par souche bactérienne) capables de bloquer les défenses (Bent and Mackey, 2008; Landry *et al.*, 2020; Zhou and Chai, 2008). Par exemple, certains effecteurs peuvent inhiber le dépôt de callose (Hauck *et al.*, 2003; Shang *et al.*, 2006), bloquer les voies de MAPK (He *et al.*, 2006), intervenir dans les voies hormonales (Chen *et al.*, 2007; Cui *et al.*, 2013; De Torres-Zabala *et al.*, 2007) ou bloquer la synthèse de protéines ou de miRNA (Kim *et al.*, 2009; Navarro *et al.*, 2008). De façon intéressante, plusieurs effecteurs peuvent cibler la même voie de défense, et certains effecteurs peuvent bloquer plusieurs réponses cellulaires. Par exemple, AvrPto et AvrPtoB ciblent la protéine BAK1, qui est un co-récepteur de nombreux PRR et de récepteurs aux brassinostéroïdes. L'interaction de AvrPto et AvrPtoB avec BAK1 permet de bloquer la transmission du signal médiée par les PRR et donc d'éviter le déclenchement de nombreuses réponses de défense comme le dépôt de callose ou l'induction de voies MAPK (Shan *et al.*, 2008). De la même manière, les effecteurs XopN, XopQ, XopX et XopZ de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) sont capables de bloquer la détection d'un DAMP produit par une lipase/esterase (LipA) de *Xoo* (Sinha *et al.*, 2013). En bloquant la détection de DAMP, ces effecteurs permettent à *Xoo* d'être plus agressive sur le riz.

Pour éviter la reconnaissance des effecteurs, les pathogènes peuvent perdre l'effecteur reconnu ou il peut être modifié par des mutations. Par exemple, il a été montré que des souches du pathogène fongique *Leptosphaeria maculans* avaient perdu l'effecteur AvrLm1 reconnu par le gène *R Rlm1* chez les *Brassicaceae* (Gout *et al.*, 2006). Également, il a été observé que des souches de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* portaient un effecteur AvrPhpE légèrement modifié par mutation (Stevens *et al.*, 1998). Cette modification permet alors à l'effecteur de ne pas être reconnu *via* le gène *R2* du haricot.

Plusieurs exemples montrent aussi que certains effecteurs empêchent la reconnaissance d'autres effecteurs. Par exemple, l'effecteurs AvrBsT de *Xanthomonas euvesicatoria* peut bloquer la résistance déclenchée par la reconnaissance de AvrBs1 chez le poivron (Szczesny *et al.*, 2010).

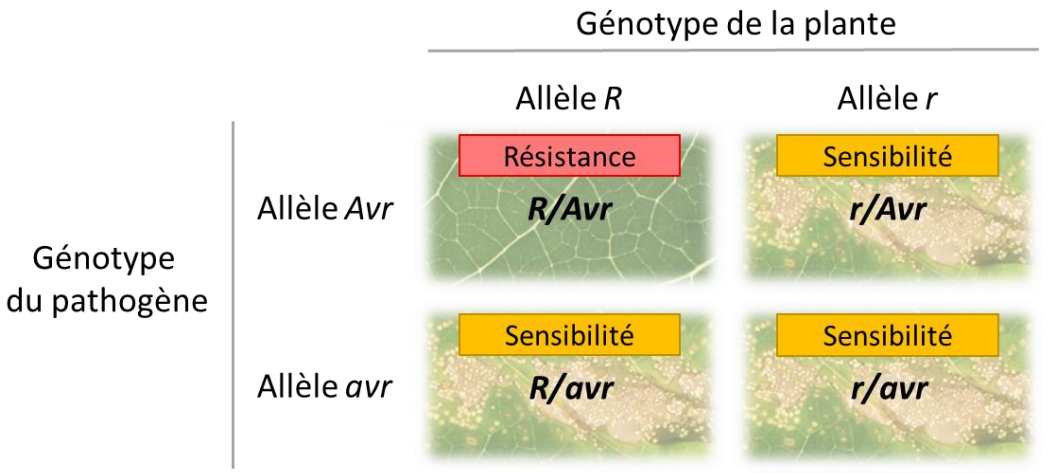


Figure 5. Modèle de Flor de relation gène pour gène. L'interaction hôte incompatible correspondant à de la résistance ne pourra avoir lieu que si la protéine R végétale reconnaît le facteur Avr du pathogène. Dans tous les autres cas l'interaction est compatible et la maladie se développe. *R* : allèle dominant du gène de résistance, *r* : allèle récessif du gène de résistance, *Avr* : allèle dominant du gène d'avirulence et *avr* : allèle récessif du gène d'avirulence.

Egalement, l'effecteur AvrPphB de *Pseudomonas syringae* supprime la reconnaissance de AvrB en clivant la kinase RIPK responsable de l'activation de RPM1 suite à la phosphorylation de RIN4 (Russell *et al.*, 2015). Récemment, il a été montré que l'effecteur TAL Tal7 chez *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* pouvait bloquer les défenses déclenchées par la reconnaissance de AvrXa7 par le gène *R Xa7* (Cai *et al.*, 2017). Enfin, l'effecteur AvrRpt2 de *Pseudomonas syringae* peut dégrader la protéine RIN4 afin de masquer la reconnaissance de AvrRPM1 par RMP1. Cependant, AvrRpt2 peut aussi être reconnu par le NLR RPS2. Cette observation semble indiquer que chaque participant à l'interaction s'équipe de plus en plus d'effecteurs et de protéines de résistance pour attaquer son ennemi (Holub, 2001; Stahl and Bishop, 2000).

Les pathogènes possèdent de nombreux effecteurs tandis que les plantes ont de nombreux NLR. Une grande partie de ces effecteurs et NLR est conservée, ce qui montre que ces protéines doivent être fonctionnelles et utiles pour chaque partenaire. En ce sens, une récente étude présente un nouveau modèle de l'interaction spécifique entre un pathogène et une plante qui pourrait expliquer la conservation de ces nombreux effecteurs et NLR (Thordal-Christensen, 2020). Ce modèle a été nommé le modèle iceberg, car il présuppose qu'une grande partie des interactions entre les effecteurs et les NLR n'engendrent pas de réponse visible. Dans ce modèle, les NLR sont considérés comme des gardiens de protéines impliquées dans l'immunité ou la sensibilité. Ainsi, si un effecteur tente de modifier ces protéines pour induire la maladie, le NLR s'active et déclenche des défenses. Ce phénomène correspondrait à la partie visible de l'iceberg. Cependant, il est possible que l'activation du NLR soit inhibée par un autre effecteur, ce qui conduirait à une non-réponse de la plante. Ce genre d'interactions seraient beaucoup plus présentes qu'on ne le pense, et constituerait la partie immergée de l'iceberg. Ce modèle est en accord avec le fait que de nombreux effecteurs et NLR s'accumulent dans les génomes de pathogènes et de plantes. La mise en place de la maladie ou de la résistance correspondrait alors à une succession d'événements de reconnaissances et d'inhibitions de la reconnaissance jusqu'à ce que l'un des partenaires ait le dernier mot.

Enfin, il est important de noter que les effecteurs ne sont pas utilisés uniquement par les agents pathogènes, mais également par les champignons ou les bactéries symbiotiques afin de jouer un rôle dans la mise en place de la symbiose (Kloppholz *et al.*, 2011; Plett *et al.*, 2011; Teulet *et al.*, 2019).

1.6. Des modèles face à des réalités

Face à ces nombreuses observations, plusieurs modèles ont vu le jour pour essayer de décrire les mécanismes moléculaires conduisant aux différentes interactions plantes-pathogènes.

1.6.1. Le modèle de Flor

Le modèle de Flor aussi appelé modèle gène pour gène fut l'un des premiers modèles pour expliquer la résistance ou la sensibilité d'une plante en lien avec les facteurs de pathogénie du pathogène (Flor, 1971, Figure 5). Dans ce modèle, les plantes possèdent des protéines de résistance (R) capables de reconnaître des facteurs d'avirulence (Avr) chez les pathogènes. Le pathogène peut porter un facteur codé par l'allèle *Avr* dominant ou l'allèle récessif *avr*, tandis

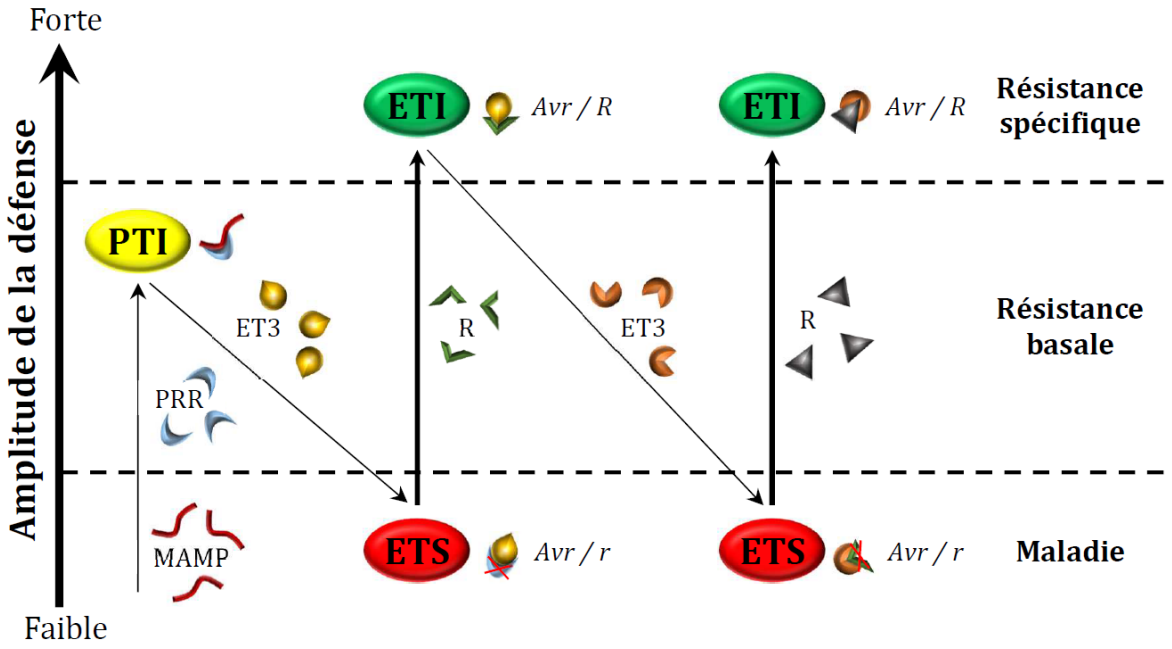


Figure 6. Modèle de coévolution en zig-zag de l'interaction hôte-pathogène. Adapté de Jones and Dangl, 2006 par Ruh, 2017. La plante peut reconnaître des MAMP (Microbe-Associated Molecular Pattern) grâce à des PRR (Pattern Recognition Receptors) ce qui déclenche la PTI (PAMP-Triggered Immunity), correspondant à la résistance faible et non spécifique de la plante. Pour contourner la PTI, le pathogène peut sécréter des effecteurs dont des ET3 (Effecteurs de Type III) afin d'entrer dans une phase de sensibilité appelées ETS (Effector-Triggered Susceptibility). Ensuite, la plante peut produire des protéines R (résistance) qui reconnaissent les effecteurs, qui deviennent alors des protéines d'avirulence (Avr), ce qui déclenche l'ETI (Effector-Triggered Immunity), correspondant à une résistance forte et spécifique. En réponse, le pathogène peut évoluer en acquérant de nouveaux effecteurs capables de contourner l'ETI afin de restaurer l'ETS, jusqu'à ce que de nouvelles protéines R apparaissent. *R* : allèle dominant du gène de résistance, *r* : allèle récessif du gène de résistance et *Avr* : allèle dominant du gène d'avirulence.

que la plante peut porter un gène *R* dominant ou un gène *r* récessif. Seule la reconnaissance de l'allèle *Avr* par l'allèle *R* conduit à la résistance hôte incompatible et au déclenchement des défenses. Dans tous les autres cas, l'interaction est hôte compatible et la maladie se développe. Bien que ce modèle permet d'avoir une première approche de la reconnaissance spécifique des pathogènes par les plantes, il ne reflète pas toute la complexité génétique et moléculaire de ces interactions. Par exemple, les gènes *R* ne sont pas toujours dominants, il existe aussi des gènes de résistance récessifs (Deslandes *et al.*, 2002).

1.6.2. Le modèle en zig-zag

Plus récemment, Jones and Dangl (2006) ont proposé le modèle en zig-zag prenant en compte la coévolution des deux partenaires (Figure 6). Dans ce modèle le pathogène est d'abord reconnu par la plante *via* la reconnaissance de MAMP ou DAMP par des PRR, ce qui déclenche la PTI. Le pathogène peut évoluer en acquérant des effecteurs capables de contourner la PTI, ce qui conduit à l'ETS. Cependant, la plante va aussi évoluer en acquérant des protéines R capables de reconnaitre les effecteurs, ce qui déclenche l'ETI. Enfin, le pathogène peut encore évoluer en modifiant les effecteurs reconnus ou bien en acquérant de nouveaux effecteurs afin de retourner à l'ETS (Figure 6). La PTI correspondrait alors à une immunité basale et non spécifique, et est considérée comme la première ligne de défenses induites par les pathogènes. L'ETI est définie comme une réponse forte spécifique contre un pathogène, et est souvent décrite comme une PTI amplifiée associée à une mort cellulaire programmée des tissus infectés (Chisholm *et al.*, 2006; Jones and Dangl, 2006).

Bien que l'immunité des plantes soit facilement compréhensible à l'aide du modèle en zig-zag, la réalité des interactions plantes-pathogènes est bien plus complexe, et la distinction entre l'ETI et la PTI est discutable (Boller and Felix, 2009). En effet, il a été montré que les mêmes mécanismes étaient utilisés lors de la PTI et de l'ETI, mais de manière différente (Tsuda and Katagiri, 2010). Les mécanismes de défenses seraient synergiques dans le cas de la PTI, alors qu'ils seraient compensatoires dans le cas de l'ETI. Ainsi, l'ETI représente une PTI plus robuste, intense et prolongée. De plus, les ensembles de gènes différentiellement exprimés lors de la PTI et de l'ETI sont très proches, ce qui montre que les réponses induites sont similaires lors de ces deux types de réponses (Navarro *et al.*, 2004; Tao *et al.*, 2003).

L'ETI est souvent associée au développement de la HR et aux réponses hormonales comme la SAR. Cependant, des MAMP peuvent aussi induire ces réponses, comme par exemple la flagelline qui peut induire la HR, la voie du SA et la SAR ou encore la voie de l'ET (Bethke *et al.*, 2008; Che *et al.*, 2000; Tsuda *et al.*, 2008). De manière intéressante, la reconnaissance de la flagelline peut engendrer des réponses plus ou moins fortes en fonction de l'espèce végétale testée, et il existe des variants de l'épitope flg22 (Felix *et al.*, 1999; Thomma *et al.*, 2011). Ces observations suggèrent qu'il existe une co-évolution entre les MAMP et les PRR (Cook *et al.*, 2015). De plus, L'ETI est considérée comme une réponse de défense forte de type qualitative, tandis que la PTI est une réponse quantitative. Or, dans certains cas l'interaction entre un NLR et un effecteur peut induire une résistance faible, comme dans le cas de l'interaction entre AvrRpt4 et RPS4 (Wirthmueller *et al.*, 2007). Au contraire, la détection d'un MAMP peut conduire à une forte résistance, notamment lors du développement de HR

(Taguchi *et al.*, 2003). Toutes ces observations montrent que la frontière entre PTI et ETI est assez floue, et qu'il existe un continuum de réponses possibles entre la PTI et l'ETI. Par ailleurs, la distinction entre MAMP et effecteurs n'est pas toujours évidente. Les MAMP sont décrits comme des molécules conservées chez les pathogènes et ayant un rôle dans la fitness du pathogène. Or, il a été montré que de nombreux MAMP peuvent aussi avoir un rôle dans la virulence, et ne sont pas forcément conservés chez les pathogènes (Cook *et al.*, 2015). De plus, certains effecteurs peuvent être reconnus par des PRR et peuvent donc parfois correspondre à des MAMP. Par exemple, l'effecteur Avr4 peut déclencher une HR, cependant il est conservé dans de nombreux génomes de *Mycosphaerella fijensis* et peut être reconnu par des PRR (Thomma *et al.*, 2011). Également, les gènes *R* seraient des gènes spécifiques d'un pathogène, voire d'un effecteur. Or, certains NLR ne sont pas spécifiques d'un pathogène, comme le gène *Rxo1* du maïs qui permet de résister à la fois à *Burkholderia* et *Xanthomonas* (Zhao *et al.*, 2004).

1.6.3. La notion de système de surveillance

Face à la remise en cause du modèle en zig-zag, plusieurs études ont proposé un nouveau modèle des interactions plantes-pathogènes. Par exemple, Cook *et al.* (2015) ont proposé que les MAMP, DAMP et effecteurs pourraient être regroupés sous le terme de motifs d'invasions (IP : Invasion Pattern), tandis que les protéines PRR et R pourraient être regroupées sous le terme de récepteurs aux motifs d'invasions (IPR : Invasion Pattern Receptor). Ainsi, la reconnaissance d'un IP par un IPR conduirait à la réponse IPTR (Invasion Pattern Triggered Response). Cette réponse ne conduit pas forcément à de la résistance, laissant ainsi la possibilité de multiples réponses intermédiaires entre la résistance et la sensibilité. Ce modèle a été repris récemment par van der Burgh and Joosten (2019), qui proposent d'y introduire la notion de localisation de la reconnaissance. Ainsi, les IP reconnus au niveau extracellulaire de la cellule végétale seraient appelés ExIP (Extracellular Immunogenic Pattern), tandis que ceux reconnus à l'intérieur de la cellule végétale seraient appelés InIP (Intracellular Immunogenic Pattern). Ainsi, les ExIP déclencheraient la réponse ExTI (Extracellularly Triggered Immunity) tandis que les InIP déclencheraient la réponse InTI (Intracellularly Triggered Immunity). Ces modèles présentent l'avantage d'être plus intégratifs et plus proches de la réalité, en donnant des notions moins précises pouvant s'adapter à de nombreuses interactions plantes-pathogènes.

Bactériose foliaire sur riz causée par *X. oryzae* pv. *oryzicola.* Donald Groth, Louisiana State University AgCenter, Bugwood.org.

Graisse bactérienne sur Begonia causée par *Xanthomonas sp.* Department of Plant Pathology , North Carolina State University, Bugwood.org.

Chloroses et nécroses sur feuille de haricot et pustules sur gousses de haricot dues à la graisse commune du haricot causée par *X. phaseoli* pv. *phaseoli.* Howard F. Schwartz, Colorado State University, Bugwood.org.

Taches sur graines de haricot causée par *X. phaseoli pv. phaseoli* à droite et graines saines à gauche. V.R. Wallen, Agriculture Canada.

Taches bactériennes sur poivron causées par *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria.* Ritchie, D.F. (2000). Bacterial spot of pepper and tomato. *The Plant Health Instructor.*

Flétrissement de la banane et du bananier causé par *X. campestris pv. musacearum*. Tripathi et al., 2009.

Taches foliaires angulaires sur coton causées par *X. citri ssp. malvacearum.* Clemson University - USDA Cooperative Extension Slide Series , Bugwood.org.

Taches bactériennes sur tomate causées par *X. vesicatoria.* Mary Ann Hansen, Virginia Polytechnic Institute and State University, Bugwood.org.

Figure 7a. Exemples de maladies provoquées par des bactéries du genre *Xanthomonas*.

2. Les *Xanthomonas* et leurs effecteurs

2.1. Les *Xanthomonas*

De nombreuse espèces de *Xanthomonas* ont été décrites parmi les premières bactéries pathogènes de plantes (Wakker, 1887). Ces bactéries ont d'abord été nommées *Bacillus* en 1897 (Smith, 1897), puis identifiées comme des *Xanthomonas* en 1939 (Dowson, 1939). La bactérie est alors décrite comme "une forme jaune avec un seul flagelle polaire" en 1943 et en 1984 (Bradbury, 1984; Dowson, 1943, Figure 8 et 10a), tandis que les colonies sont décrites en 1957 comme de "oeufs frits miniatures" à cause de leur aspect jaune plus ou moins muqueux (Corey and Starr, 1957). Aujourd'hui, les *Xanthomonas* appartiennent à la famille des *Xanthomonadaceae* et à l'ordre des *Xanthomonadales*, elles sont décrites comme des bacilles à Gram négatif du groupe des Gammaproteobacteria, aérobies et portants un seul flagelle polaire. La couleur jaune des colonies de *Xanthomonas* est due à la production de xanthomonadine, tandis que l'aspect muqueux est lié à la production plus ou moins importante de polysaccharides tels que les xanthanes (Corey and Starr, 1957; Poplawsky *et al.*, 2000). Les xanthomonadines ont un rôle protecteur vis à vis des stress lumineux et leur synthèse serait régulée par le quorum sensing (Poplawsky *et al.*, 2000). Ainsi, ce pigment participerait à la protection des bactéries lors de la multiplication épiphyte sur la phyllosphère. Cependant toutes les *Xanthomonas* ne synthétisent pas de xanthomonadine, c'est le cas de *X. axonopodis* pv. *manihotis*, *X. campestris* pv. *mangiferaindicae* et *X. campestris* pv. *viticola*, dont les colonies sont blanches (Ferreira *et al.*, 2019; Midha and Patil, 2014). Les polysaccharides, quant à eux, sont des acteurs importants du pouvoir pathogène car les *Xanthomonas* muqueuses ont tendance à être plus agressives que les non muqueuses (Corey and Starr, 1957). De plus, les xanthanes supprimeraient les défenses basales de la plante comme le dépôt de callose, en chélatant les cations Ca^{2+} nécessaires pour l'activation des défenses (Aslam *et al.*, 2008; Yun *et al.*, 2006).

Les bactéries appartenants au genre *Xanthomonas* sont capables d'attaquer au moins 124 espèces monocotylédones et 268 espèces dicotylédones, dont de nombreuses plantes d'intérêt agronomique comme le riz, le blé, les agrumes, la tomate, le chou, le manioc, la banane ou encore le haricot (Jacques *et al.*, 2016). Ce genre bactérien est responsable d'épidémies considérables (Babadoost and Babadoost, 2012; Lamichhane *et al.*, 2012; Mirik *et al.*, 2007b; Nakato *et al.*, 2018; Quezado-Duval *et al.*, 2004). Les *Xanthomonas* sont divisées en plus de 35 espèces, elles-mêmes divisées en pathovars selon leurs gammes d'hôtes. Un pathovar étant défini comme un groupe de souches capable d'infecter et de produire les mêmes symptômes sur une même gamme d'hôte (Dye *et al.*, 1980). Ainsi, le genre *Xanthomonas* est très diversifié, mais chaque souche est spécialisée car elle ne peut infecter qu'un nombre restreint d'espèces végétales. En plus de la spécialisation à un hôte, ces bactéries peuvent se spécialiser pour un tissu comme le montrent deux pathogènes du riz : *X. oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) est un pathogène vasculaire alors que *X. oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) colonise le mésophylle (Jacques *et al.*, 2016; Niño-Liu *et al.*, 2006). Les symptômes causés par *Xanthomonas* sont eux-aussi très diversifiés et peuvent toucher toutes les parties de la plante (Figure 7). Par exemple, *X. vesicatoria* est l'agent responsable de la tache bactérienne sur les fruits de tomate, *X. campestris* pv. *campestris*

Stries et suintements bactériens sur feuille de blé causés par *X. translucens* pv. *translucens*. EPPO, https://gd.eppo.int/taxon/XANTTR/photoslemson

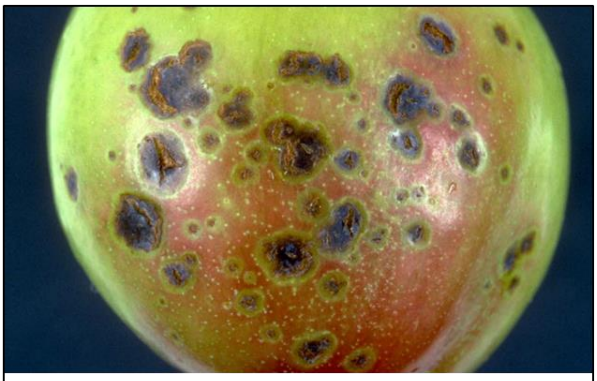
Tache angulaire du fraisier causées par *X. fragariae*. https://content.ces.ncsu.edu/angular-leafspot-of-strawberry

Chancre bactérien du peuplier causé par *X. populis*. Michel Ménard, INRA, Bugwood.org

Pourriture noire sur carotte causée par *X. campestris* pv. *carotae*. William M. Brown Jr., Bugwood.org

Chancre bactérien sur feuilles et fruits d'agrumes causés par *X. citri*. Timothy Schubert, Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Bugwood.org .

Pourriture noire du chou causée par *X. campestris pv. campestris*. Gerald Holmes, Strawberry Center, Cal Poly San Luis Obispo, Bugwood.org



Tache bactérienne des fruits à noyaux sur prune causée par *X. arboricola* pv. *pruni*. U. Mazzucchi, Università di Bologna, Bugwood.org

Figure 7b. Exemples de maladies provoquées par des bactéries du genre *Xanthomonas*.

engendre la pourriture noire sur des feuilles de chou, *X. populis* est responsable de chancre bactérien sur des branches de peuplier tandis que *X. phaseoli* pv. *phaseoli* est capable de produire des taches sur les graines de haricot. Cependant, il existe aussi des *Xanthomonas* non pathogènes, et ces bactéries peuvent représenter une part importante du microbiote du riz, de la laitue, du soja, du trèfle, de la tomate, du colza ou encore d'*Arabidopsis* (An *et al.*, 2019; Cesbron *et al.*, 2015; Timilsina *et al.*, 2020).

Les événements de recombinaisons et de transferts horizontaux sont nombreux chez les *Xanthomonas*, ce qui contribue grandement à leur capacité d'adaptation et à l'émergence de nouvelles maladies par saut d'hôte (Chen *et al.*, 2018; Coutinho *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2015; Merda *et al.*, 2016; Ruh *et al.*, 2017; Timilsina *et al.*, 2019; Tushemereirwe *et al.*, 2004). Toutes ces caractéristiques font de ces bactéries un excellent sujet d'étude pour comprendre la spécificité d'hôte. Il a d'ailleurs été montré que la spécificité d'hôte des *Xanthomonas* pouvait être régie par différents facteurs tels que la présence d'un SST3 et d'ET3, les lipopolysaccharides, les acteurs du chimiotactisme, les adhésines, les facteurs de transcription ou encore les récepteurs Ton-B dépendants (Escalon *et al.*, 2013; Hajri *et al.*, 2009; Kingsley *et al.*, 1993; Mhedbi-Hajri *et al.*, 2011; Schwartz *et al.*, 2015; Timilsina *et al.*, 2020). De façon intéressante, tous ces facteurs sont liés à la pathogénie ou l'agressivité des *Xanthomonas*. La pathogénie d'une bactérie correspond à sa capacité à entrer dans une plante hôte et générer des symptômes malgré la mise en place de défenses par la plante. L'adaptation à l'hôte pourrait donc correspondre à une adaptation aux mécanismes de défenses de la plante hôte. De plus, le fait qu'un nombre limité de souches attaque un nombre limité de plantes suggère une coévolution des différents pathosystèmes, où chaque souche s'est spécialisée pour un hôte au détriment de ces capacités généralistes.

Le cycle infectieux des différentes *Xanthomonas* est adapté à leur plante hôte. Ce cycle infectieux peut-être divisé en quatre étapes : (*i*) l'attraction, (*ii*) l'installation, (*iii*) la multiplication et (*vi*) la dispersion. Durant l'étape d'attraction, les bactéries sont capables de chimiotactisme, ce qui leur permet de se déplacer grâce à leur flagelle vers des sites favorables à leur survie sur leur plante hôte comme la base des trichomes, ou vers des portes d'entrées comme les stomates ou les hydathodes (Beattie and Lindow, 1995; Indiana, 2016). Par exemple, *X. campestris* est capable de percevoir la sinigrine et la L-phenylalanine émises par les blessures sur feuilles de chou, ce qui lui permettrait de s'internaliser dans la plante (Indiana, 2016). Ensuite, les bactéries initient la phase d'installation, en se multipliant de façon épiphyte sur la plante (Hirano and Upper, 1983). Cette multiplication épiphyte va conduire à la formation d'un biofilm, défini comme une communauté de microorganismes sécrétant une matrice adhésive et protectrice constituée de polysaccharides (Consterton and Lewandowski, 1995). Cette matrice permet aux bactéries de survivre sur la plante en étant protégées des nombreux stress environnementaux qui règnent sur la phyllosphère (température, sécheresse, rayons lumineux, défenses constitutives de la plante…) (Jacques *et al.*, 2005; Morris and Monier, 2003). Une fois que les bactéries sont assez nombreuses, le phénomène de quorum sensing va se mettre en place (He and Zhang, 2008). Ce phénomène est régi par des facteurs de signalisation diffusibles (DSF : Diffusible signaling factor) qui permettent aux bactéries de réguler de nombreux processus en fonction de la densité bactérienne présente dans les biofilms, comme par exemple la production

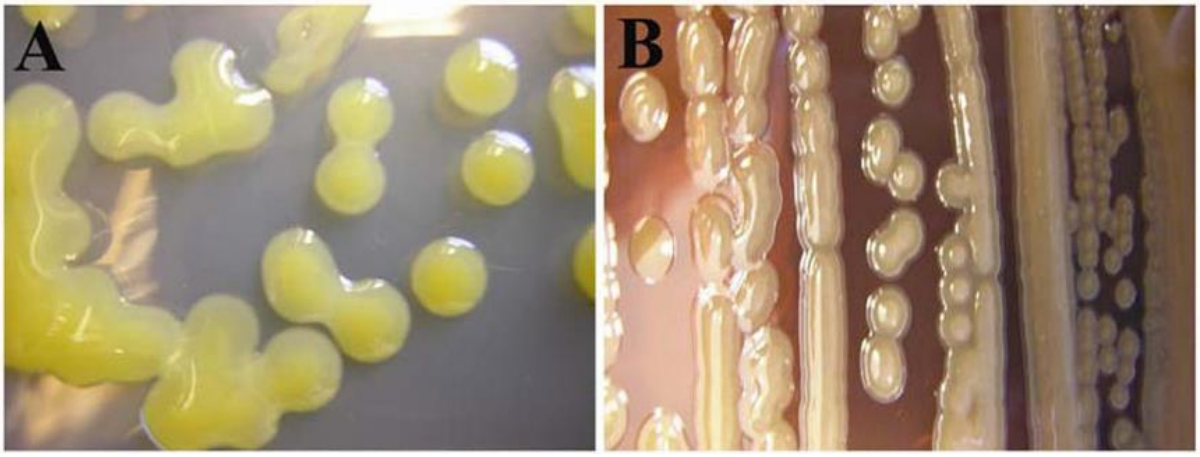


Figure 8. Colonies de *X. phaseoli* pv. *phaseoli* (A) et de *X. citri* pv. *fuscans* (B). Photos de Duncan *et al.*, 2011. L'aspect muqueux des colonies est dû à la production de polysaccharides et la couleur jaune des colonies est due à la production de xanthomonadine. Les colonies de *X. citri* pv. *fuscans* produisent le pigment fuscans (de couleur brune) diffusible dans le milieu (**B**).

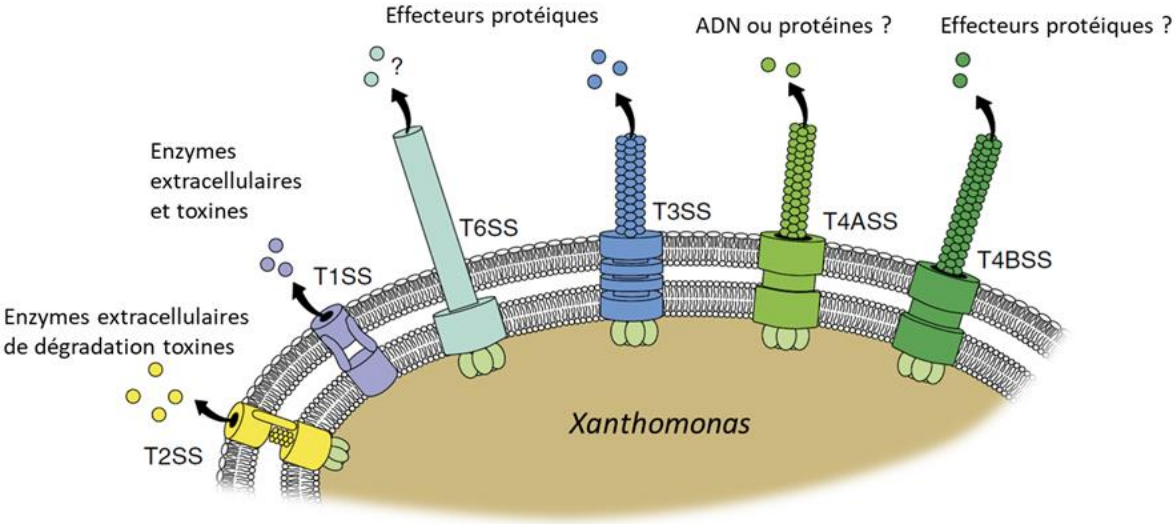


Figure 9. Les différents systèmes de sécrétion de *Xanthomonas*. Adapté de Büttner and Bonas, 2010. Le système de sécrétion de type I (T1SS) permet d'exporter des enzymes et des toxines. Le système de sécrétion de type II (T2SS) permet d'exporter des enzymes de dégradation et des toxines. Les systèmes de sécrétion de type III (T3SS) et de type VI (T6SS) permettent l'export d'effecteurs protéiques. Le système de sécrétion de type IV (T4ASS et T4BSS) permettrait l'export d'ADN et de diverses protéines. Les SST2 et 3 participent à l'agressivité des *Xanthomonas*, tandis que les SST4 et 6 participent aux interactions entre *Xanthomonas* et d'autres microorganismes.

de facteurs de virulence (Zhou *et al.*, 2016). Ainsi, si les conditions environnementales sont favorables et que les bactéries sont assez nombreuses, la phase symptomatique de multiplication endophyte démarre. Les bactéries vont alors entrer dans la plante hôte en colonisant le plus souvent le mésophylle et le système vasculaire, ce qui déclenche les défenses (cf. partie 1.4). Pour pouvoir effectuer leur cycle infectieux, les *Xanthomonas* doivent alors mettre en place des stratégies pour exploiter les ressources de leur plante hôte tout en évitant le déclenchement des défenses (cf. partie 1.5). La réussite de l'infection dépend alors de l'action de multiples facteurs de virulence tels que les systèmes de sécrétion et leurs effecteurs (Büttner and Bonas, 2010, Figure 9). Durant la dernière phase de dispersion, les bactéries peuvent ressortir par les stomates et vont pouvoir se propager vers un nouvel hôte pour démarrer un nouveau cycle infectieux (Karavina *et al.*, 2011). Les *Xanthomonas* peuvent être dispersées par le vent, l'eau, le sol, les animaux, les hommes et les insectes (An *et al.*, 2019). Ces bactéries peuvent aussi survivre dans les semences, les débris végétaux ou encore sur des plantes hôtes alternatives de façon asymptomatique (Akhavan *et al.*, 2013; Kaiser and Vakili, 1978).

Tableau 2. Fonction et distribution d'effecteurs de type III de *Xanthomonas*.

Effecteurs	Domaine fonctionel ou motif	Action	Distribution
AvrBs2	Homologie avec agrocinopine synthase et glycérol phosphodiesterase	Supprime la PTI	Toutes sauf *Xca* et *Xal*
TALE (AvrBs3, Pth)	Facteur de transcription nucléaire de type AvrBs3	Induit des gènes de sensibilité dans le génome de la plante	Toutes sauf *Xal*, *Xcv* et *Xmu*
XopB	Inconnu	Interfère avec le trafic vésiculaire, les enzyme liées à la paroi, prévient la mise en place des défense	*Xeu*
XopD	Cystéine protéase type SUMO, domaine NLS, site de liaison à l'ADN et motif EAR	Interfère avec le trafic vésiculaire, des enzymes de la paroi et les voies hormonales	*Xeu* et certaines souches de *Xcc*
XopH1 (AvrBs1.1)	Tyrosine phosphatase putative	Peut déclencher l'ETI	*Xeu*, *Xcc*, *Xmu* et *Xcv*
XopJ2 (AvrBsT)	Acetyltransferase Ser/Thr, protéase à cystéine de la famille C55	Supprime l'ETI médiée par AvrBs1	Quelques souches de *Xeu*
XopJ3 (AvrRxv)	Acetyltransferase Ser/Thr, protéase à cystéine de la famille C55	Peut déclencher l'ETI	*Xeu*
XopJ4 (AvrXccB, AvrXv4)	Acetyltransferase Ser/Thr, protéase à cystéine de la famille C55	Interfère avec le trafic vésiculaire, des enzymes de la paroi, les voies hormonales et peut déclencher l'ETI	*Xeu*
XopL	Protéine LRR	Supprime la PTI	Toutes sauf *Xca* et *Xal*
XopN	motif répété ARM/Heat	Supprime la PTI et cible une protéine RLK cytoplasmique	Toutes sauf *Xca* et *Xal*
XopP		Supprime la PTI	Toutes sauf *Xal*
XopQ	Inosine-uridine nucléoside N-ribohydrolase	Supprime la PTI et l'ETI	Toutes sauf *Xca* et *Xal*
XopS		Supprime la PTI	*Xe*
XopX	Protéine riche en méthionine	Supprime la PTI	Toutes sauf *Xca* et *Xal*
XopY		Cible une protéine RLK cytoplasmique	*Xoo*
XopZ1		Supprime la PTI	Toutes sauf *Xca* et *Xal*
XopAA	Répétition protéasome/cyclosome	Cible une protéine RLK cytoplasmique	*Xeu*, *Xoo* et *Xoc*
XopAC	Protéine LRR	Cible une protéine RLK cytoplasmique	*Xcc*
XopAH (AvrXccC)		Interfère avec les voies hormonales et peut déclencher l'ETI	*Xcc*
XopAU	protéine kinase avec activité catalytique	Interfère avec une voie MAPK, en phosphorylant et activant MKK2	*Xe*

Xal : *X. albilineans*, *Xau* : *X. citri* pv. *aurantifolii*, *Xca* : *X. campestris* pv. *armoraciae*, *Xcc* : *X. campestris* pv. *campestris*, *Xcf* : *X. citri* pv. *fuscans*, *Xcg* : *X. citri* pv. *glycines*, *Xci* : *X. citri* pv. *citri*, *Xcm* : *X. citri* pv. *malvacearum*, *Xcr* : *X. campestris* pv. *raphani*, *Xcu* : *X. axonopodis* pv. *citrumelo*, *Xcv* : *X. campestris* pv. *vasculorum*, *Xeu* : *X. euvesicatoria*, *Xg* : *X. gardneri*, *Xmu* : *X. campestris* pv. *musacearum*, *Xoc* : *X. oryzae* pv. *oryzicola*, *Xoo* : *X. oryzae* pv. *oryzae*, *Xp* : *X. perforans*, *Xpm* : *X. phaseoli* pv. *manihotis*, *Xpp* : *X. phaseoli* pv. *phaseoli* et *Xtu* : *X. translucens* pv. *undulosa*.

2.2. Les ET3 de *Xanthomonas*

La pathogénie des *Xanthomonas* repose en partie sur plusieurs systèmes de sécrétions dont un SST3, qui leur permet d'injecter dans la cellule végétale des ET3 (Büttner and Bonas, 2010; Timilsina *et al.*, 2020, Figure 9). Ces effecteurs sont généralement appelés Xops (*Xanthomonas* Outer Protein), et ont été classés en plus de 50 familles ce qui témoigne de leur grande diversité (http://xanthomonas.org). Cette grande diversité s'accompagne d'une diversité de fonctions (Tableau 2). Les ET3 ont pour rôle de modifier la physiologie de la plante pour aider la bactérie à obtenir des nutriments et/ou faciliter l'infection en échappant aux défenses de la plante (Macho, 2015). Plusieurs ET3 sont capables de bloquer les défenses de la plante, comme par exemple XopN qui va inhiber la PTI en ciblant un RLK chez la tomate (Kim *et al.*, 2009). D'autres effecteurs agissent sur d'autres voies comme XopAU qui peut interagir avec une voie MAPK en phosphorylant et activant MKK2 ce qui permet d'inhiber la PTI chez le poivron (Teper *et al.*, 2018). XopJ quant à lui, est capable de bloquer le fonctionnement des protéasomes des cellules végétales ce qui diminue le trafic vésiculaire et donc le dépôt de callose chez le poivron (Üstün *et al.*, 2013; Üstün and Börnke, 2014). Cet effecteur peut aussi inhiber les défenses induites par la voie du SA, mais le mécanisme expliquant cette répression reste encore inconnu. Une des hypothèses serait que XopJ en inhibant le protéasome, perturbe le renouvellement de NPR1 qui est impliqué dans la régulation de la voie du SA (Üstün and Börnke, 2014). Tous ces exemples témoignent de l'implication des ET3 dans la virulence des *Xanthomonas.* Chaque souche de *Xanthomonas* est capable de produire au moins 15 ET3 différents (Kay and Bonas, 2009), il y a donc souvent de la redondance fonctionnelle entre ces effecteurs ce qui permet d'assurer la réussite de l'infection en déclenchant l'ETS. Cependant, certains de ces ET3 comme XopJ3 ou XopH1 peuvent être reconnus par la plante ce qui déclenche les défenses (Timilsina *et al.*, 2020). Mais il est possible que d'autres effecteurs bloquent cette réponse de défense induite par ces effecteurs. Par exemple, AvrBsT (XopJ2) est capable de bloquer l'ETI déclenchée par l'effecteur AvrBs1 (XopH1), afin de revenir à l'ETS (Szczesny *et al.*, 2010). Parmi les ET3 de *Xanthomonas*, il existe une classe particulière d'effecteurs appelés effecteurs TAL pour transcription activator-like qui sont décrits dans la partie suivante.

2.2.1. Les effecteurs TAL

Les effecteurs TAL ou TALE pour transcription activator-like effectors, représentent une classe particulière d'ET3, car ils ont pour fonction d'induire des gènes de sensibilité dans le génome de la plante afin de promouvoir l'infection (Boch *et al.*, 2014).

2.2.1.1. Découverte, structure et fonctionnement

2.2.1.1.1. Découverte

Dans les années 1980 le concept de gène de résistance est bien connu et plusieurs gènes de résistance ont été identifiés comme les gènes *Bs1*, *Bs2* et *Bs3* du poivron qui permettent de résister à *X. euvesicatoria* (Hibberd *et al.*, 1987; Kim and Hartmann, 1985). En 1989, Bonas *et al.* remarquent qu'une de leur souche de *X. euvesicatoria* est capable d'induire des symptômes sur un poivron portant le gène de résistance *Bs3* (Bonas *et al.*, 1989, Figure 10b).

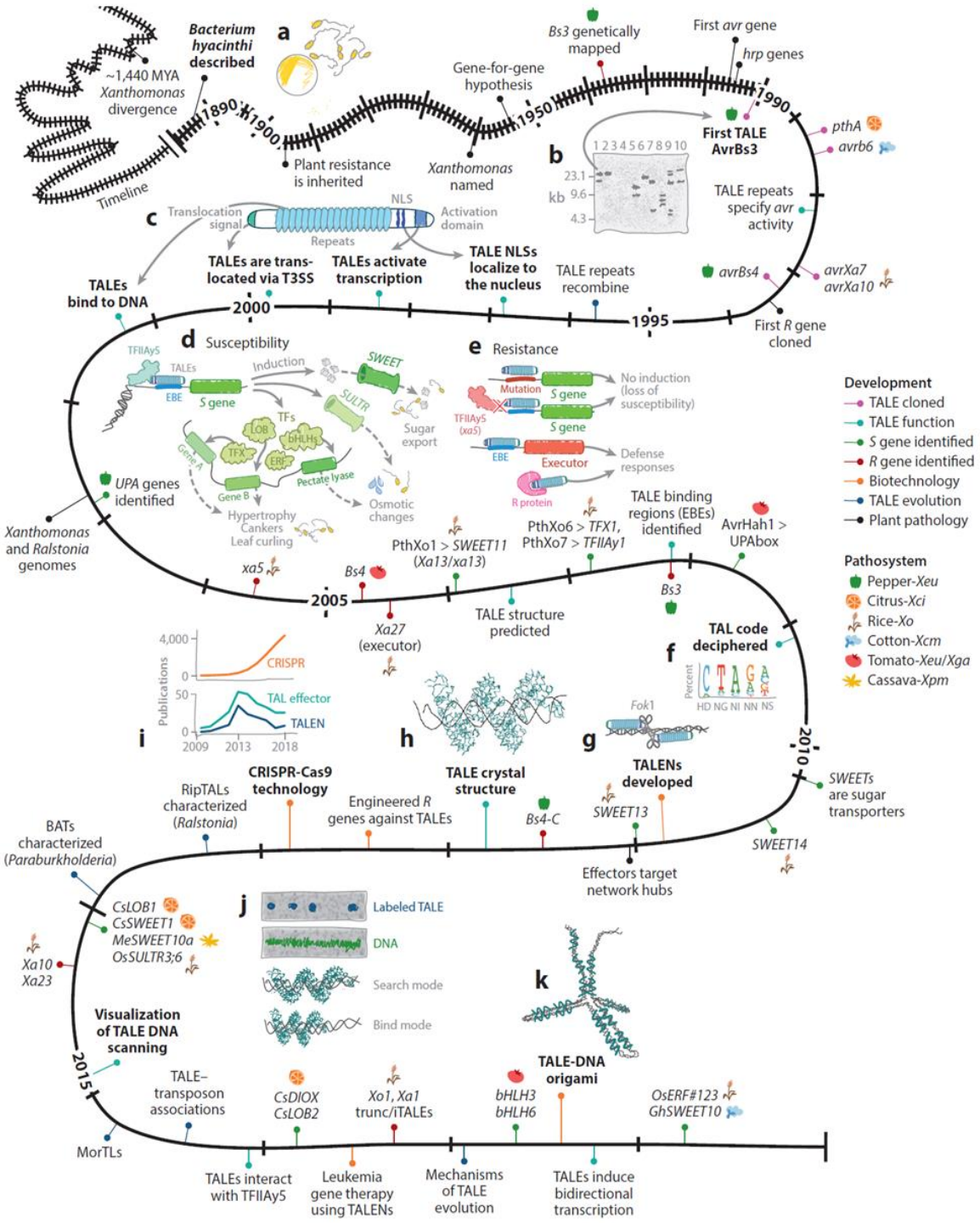


Figure 10. Frise chronologique des recherches effectuées sur les effecteurs TAL. De Perez-Quintero and Szurek, 2019. Au cours d'une année donnée les événements ne sont pas triés par ordre chronologique. Première observation au microscope de *Xanthomonas* (**a**). Découverte des effecteurs TAL chez *Xanthomonas* (**b**). Compréhension de la structure des effecteurs TAL (**c**). Découverte des premiers gènes de sensibilité (*SWEET*, *LOB* ou *bHLH*) (**d**). Découverte de gènes de résistance aux effecteurs TAL (**e**). Découverte du TALE-code (**f**). Développement de la technologie TALEN (**g**). Description de la structure d'un effecteur TAL en cristallographie (**h**). Développement de la technologie CRISPR au détriment des TALEN (**i**). Découverte de la dynamique de recherche et d'accroche de la cible (**j**). Formation de nanostructures d'ADN à l'aide des effecteurs TAL (**k**). BATs : effecteurs TAL de *Burkholderia*, RipTALs : effecteurs TAL de *Ralstonia*, bHLH : Basic Helix-Loop-Helix, EBE : Effector Binding Element, LOB : Lateral Organ Boundaries, MorTLs : effecteurs TAL d'organismes marins, NLS : Nuclear Localization Signal, *Xci* : *X. citri* pv. *citri*, *Xcm* : *X. citri* pv. *malvacearum*, *Xeu* : *X. euvesicatoria*, *Xga* : *X. gardneri*, *Xo* : *X. oryzae* et *Xpm* : *X. phaseoli* pv. *manihotis*.

La souche capable d'attaquer ce poivron avait perdu spontanément un plasmide qui portait le gène *AvrBs3* reconnu par le gène de résistance *Bs3* (Minsavage *et al.*, 1990; Van Den Ackerveken *et al.*, 1996). Le gène AvrBs3 a été muté et cloné pour valider sa fonction comme gène d'avirulence, et a été séquencé afin de connaître ses caractéristiques (Bonas *et al.*, 1989). Ainsi la structure du premier effecteur TAL a pu être décrite comme une protéine de 125 kDa, contenant 17,5 répétitions d'une séquence conservée de 102 bp (Bonas *et al.*, 1989). En 1992, on remarque que les répétitions centrales de AvrBs3 sont essentielles au bon fonctionnement de l'interaction *Avr/R*, car la mutation des répétitions engendre une perte de la capacité à induire une HR (Herbers *et al.*, 1992, Figure 10b). De plus, les différentes mutations induites dans la région centrale répétée ne donnent pas les mêmes résultats, ce qui indique que la nature et la position des répétitions jouent un rôle dans le fonctionnement de cet effecteur (Herbers *et al.*, 1992). La découverte d'autres effecteurs similaires à AvrBs3 et notamment de AvrBs4 chez *X. euvesicatoria* a permis de comparer les séquences de ces effecteurs (Bonas *et al.*, 1989, 1993; De Feyter and Gabriel, 1991; Hopkins *et al.*, 1992; Swarup *et al.*, 1991). De façon intéressante, AvrBs3 et AvrBs4 ont une séquence similaire à 97 % et leur région centrale répétée est quasiment identique, à l'exception des acides aminés en positions 12 et 13 dans chaque répétition (Bonas *et al.*, 1993; Canteros *et al.*, 1991). Ce polymorphisme au niveau des acides aminés en position 12 et 13 a pu être confirmé avec d'autres effecteurs TAL découverts chez d'autres *Xanthomonas* (Hopkins *et al.*, 1992). Toutes ces données montrent alors que ces protéines appartiennent à une même famille multigénique ayant un rôle à la fois dans la virulence et l'avirulence, car en fonction des interactions, certaines déclenchent des HR tandis que d'autres accentuent la virulence des souches qui les portent.

Les effecteurs TAL présents chez les *Xanthomonas* sont très conservés avec une homologie de séquence au minimum de 78 %. On peut retrouver entre 0 et 28 effecteurs TAL par souche de *Xanthomonas* (Tableau 3). Des homologues des effecteurs TAL ont aussi été identifiés chez des bactéries des genres *Ralstonia* (RipTAL), *Burkholderia* (Bat) et dans des bactéries marines (MOrTL) (De Lange *et al.*, 2014; Heuer *et al.*, 2007). Les effecteurs TAL de *Xanthomonas* ont environ 60 % d'homologie de séquence avec les RipTAL de *Ralstonia*, 45 % avec les BTL de *Burkholderia* et 35 % avec les MOrTL des bactéries marines (De Lange *et al.*, 2014; Heuer *et al.*, 2007).

2.2.1.1.2. Structure et fonction

Durant l'interaction entre *Xanthomonas* et sa plante hôte, l'effecteur TAL est d'abord injecté dans la cellule végétale *via* le SST3 (Figure 11). En effet, des études ont montré que AvrBs3 se localise dans le cytoplasme des cellules végétales, et que la HR déclenchée par AvrBs3 est dépendante des gènes *hrp* (Knoop *et al.*, 1991; Van Den Ackerveken *et al.*, 1996). Pour être transloqué, les effecteurs TAL possèdent un signal de sécrétion de type III (sST3) au niveau N terminal ce qui lui permet de transiter par le SST3 de la bactérie (Rossier *et al.*, 1999; Szurek *et al.*, 2002, Figure 10c et 12).

Ensuite, l'effecteur TAL migre dans le noyau de la cellule végétale (Figure 11). Cette capacité est conférée par des signaux de localisation nucléaire (NLS : Nuclear Localization Signal) situés en région C terminale. Les effecteurs AvrBs3, PthA ou pthXo1 possèdent tous trois domaines NLS en région C terminale, ce qui permet à ces effecteurs d'être importés dans le

Tableau 3. Nombre d'effecteurs TAL au sein de diverses espèces de *Xanthomonas.*

Espèce ou pathovar	Hôte	Nombre de gènes *tal*
X. campestris pv. *musacearum*	Bananier	0
X. axonopodis pv. *vasculorum*	Canne à sucre	0
X. gardneri	Poivron et tomate	0-1
X. euvesicatoria pv. *euvesicatoria*	Poivron et tomate	0-2
X. campestris pv. *armoraciae*	Brassicacées	0-3
X. campestris pv. *campestris*	Brassicacées	0-5
X. translucens pv. *undulosa*	Blé	7-8
X. phaseoli pv. *phaseoli*	Haricot	1-3
X. citri pv. *fuscans*	Haricot	1-3
X. citri pv. *citri*	Agrumes	1-4
X. citri pv. *aurantifolii*	Agrumes	2-4
X. citri pv. *vignicola*	Niébé	0-7
X. phaseoli pv. *manihotis*	Manioc	1-6
X. citri pv. *malvacearum*	Coton	6-10
X. oryzae pv. *oryzae*	Riz	7-20
X. oryzae pv. *oryzicola*	Riz	12-28

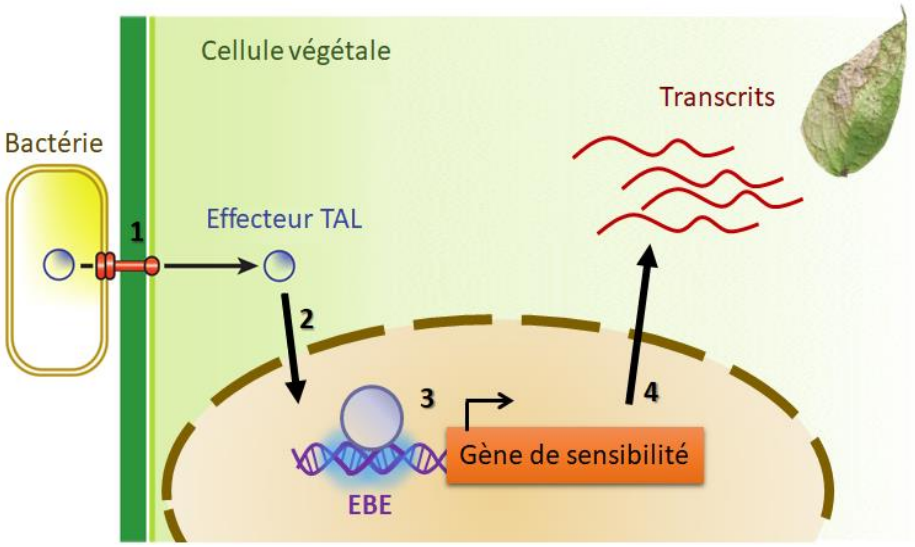


Figure 11. Mode d'action des effecteurs TAL. Adapté de Boch and Bonas, 2010. L'effecteur TAL en bleu est injecté par la bactérie dans la cellule végétale *via* le système de sécrétion de type III en rouge (**1**), puis il migre dans le noyau de la cellule végétale (**2**). Ensuite, l'effecteur se fixe sur une séquence de l'ADN de la plante appelée EBE pour Effector Binding Element, et qui est située en région promotrice d'un gène de sensibilité (**3**). Enfin, l'effecteur TAL induit la transcription du gène de sensibilité (**4**) ce qui favorise l'infection.

noyau par la machinerie d'import nucléaire (Hui *et al.*, 2019b; Szurek *et al.*, 2001, 2002; Van Den Ackerveken *et al.*, 1996; Yang and Gabriel, 1995, Figure 10c). En effet, ces domaines sont reconnus et pris en charge par des importines alpha capables de transporter les effecteurs du cytoplasme vers le noyau à travers les pores nucléaires. Une étude récente a d'ailleurs montré que le domaine NLS2 de pthXo1 pouvait interagir avec deux importines appelées OsImpα1a et OsImpα1b (Hui *et al.*, 2019a). Ces importines sont des homologues des deux importines CaImpα1 et CaImpα2 du poivron capables de transporter AvrBs3 dans le noyau (Szurek *et al.*, 2001).

Suite à son entrée dans le noyau, l'effecteur TAL va s'accrocher sur une séquence spécifique de l'ADN de l'hôte appelée EBE pour Effector Binding Element, et induire la transcription d'un gène de sensibilité pour favoriser l'infection (Figure 11). Le domaine d'activation de la transcription (AD : Activation Domain) a été découvert en 1998 (Zhu *et al.*, 1998), et plusieurs études ont montré l'importance de ce domaine dans le fonctionnement des effecteurs TAL (Szurek *et al.*, 2001; Zhu *et al.*, 1998, 1999, Figure 10c). Ce domaine AD est capable d'interagir avec le facteur de transcription eucaryote TFIIAγ5, qui lui-même va interagir avec deux autres facteurs de transcription TFIIAα et TFIIAβ afin d'induire la transcription en recrutant l'ARN polymérase (Huang *et al.*, 2017; Hui *et al.*, 2019a; Ma *et al.*, 2018a; Yuan *et al.*, 2016).

La spécificité d'accroche des effecteurs TAL sur une séquence d'ADN a fait l'objet de nombreuses recherches. Tout d'abord il a été montré que les effecteurs TAL pouvaient s'accrocher à de l'ADN sur gel (Yang *et al.*, 2000), puis des gènes cibles de ces effecteurs ont été identifiés, comme par exemple les 13 gènes *UPA* (up-regulated by AvrBs3) induits en présence de AvrBs3 et responsables des symptômes d"hypertrophie du mésophylle (Marois *et al.*, 2002, Figure 10d). Ensuite des études comparatives ont montré que les effecteurs TAL agissaient dans les promoteurs des gènes cibles. En effet, l'effecteur TAL AvrXa27 de *Xoo* est capable d'induire le gène de résistance *Xa27* mais ne peut pas induire l'allèle récessif *xa27* chez le riz. Cette induction différentielle est liée à un polymorphisme de séquence au niveau du promoteur de ces gènes (Gu *et al.*, 2005). Römer *et al.* en 2007 clonent les gènes de résistance *Bs3* et *Bs3-E* induits respectivement par les effecteurs AvrBs3 et AvrBs3Δrep16. Ils remarquent alors qu'en intervertissant les promoteurs de ces deux gènes, AvrBs3 est capable d'induire *Bs3-E* et AvrBs3Δrep16 est capable d'induire *Bs3*, ce qui montre que les effecteurs TAL s'accrochent sur le promoteur des gènes. Enfin, Kay *et al.* en 2007 ont montré que AvrBs3 s'accroche sur une courte séquence d'ADN appelée upa-box présente dans le promoteur du gène *upa20* codant un facteur de transcription bHLH (Basic Helix-Loop-Helix) chez le poivron. De façon intéressante, si AvrBs3 est tronqué au niveau de sa région centrale répétée, il n'est plus capable de s'accrocher sur la séquence upa-box. Ces résultats suggèrent alors que ce sont les répétitions centrales qui permettent aux effecteurs TAL de s'accrocher spécifiquement sur une séquence d'ADN.

Les effecteurs TAL possèdent un nombre variable de répétitions constituées de 33 à 34 acides aminés (Figure 12). Les répétitions sont toutes quasiment identiques entre elles, à l'exception des acides aminés en position 12 et 13 qui sont hypervariables et ont été nommés RVD pour Repeat Variable Di-residue (Figure 12). Face à ces observations, il apparaît évident que ce sont

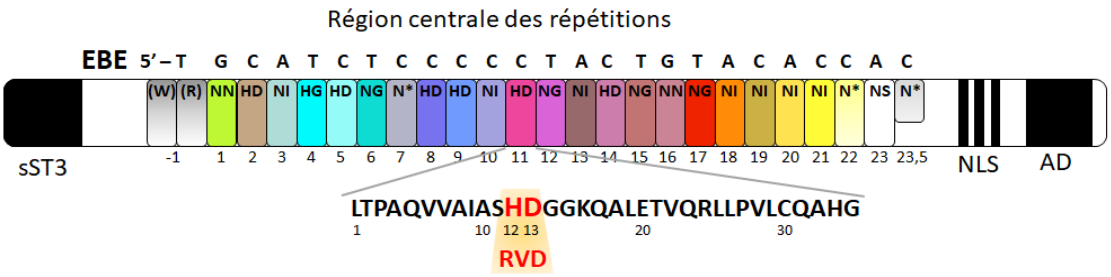


Figure 12. Structure d'un effecteur TAL. Adapté de Mak *et al.*, 2012. L'effecteur TAL est composé de quatre domaines importants pour son fonctionnement. Le signal de sécrétion de type III (sST3) situé en N terminal permet à l'effecteur d'être injecté dans la cellule végétale *via* le système de sécrétion de type III. Les domaines NLS (Nuclear Localization Signal) situés en C terminal permettent à l'effecteur d'entrer dans le noyau des cellules végétales. Le domaine d'activation de la transcription (AD : Activation Domain) situé en C terminal permet à l'effecteur d'induire la transcription d'un gène de sensibilité. La région centrale des répétitions confère la spécificité d'accroche sur une séquence d'ADN spécifique appelée EBE pour Effector Binding Element. Chaque rectangle coloré représente une répétition. Les acides aminés en position 12 et 13 au sein des répétitions sont hypervariables et ce doublet est appelé RVD (Repeat Variable Di-residue). Les RVD sont responsables de la spécificité d'accroche à chaque base azotée de l'EBE. Le nucléotide en position 0 de l'EBE est souvent une thymine (T0) capable d'interagir avec un tryptophane (W) présent en amont des répétitions dans l'effecteur TAL. La dernière répétition correspond à une demi répétition. L'effecteur TAL représenté ici correspond à l'effecteur PthXo1 de *X. oryzae* pv. *oryzae*, contenant 23,5 répétitions et ciblant une séquence de 25 nucléotides située en amont du gène *Os8N3* du riz codant un transporteur de sucre.

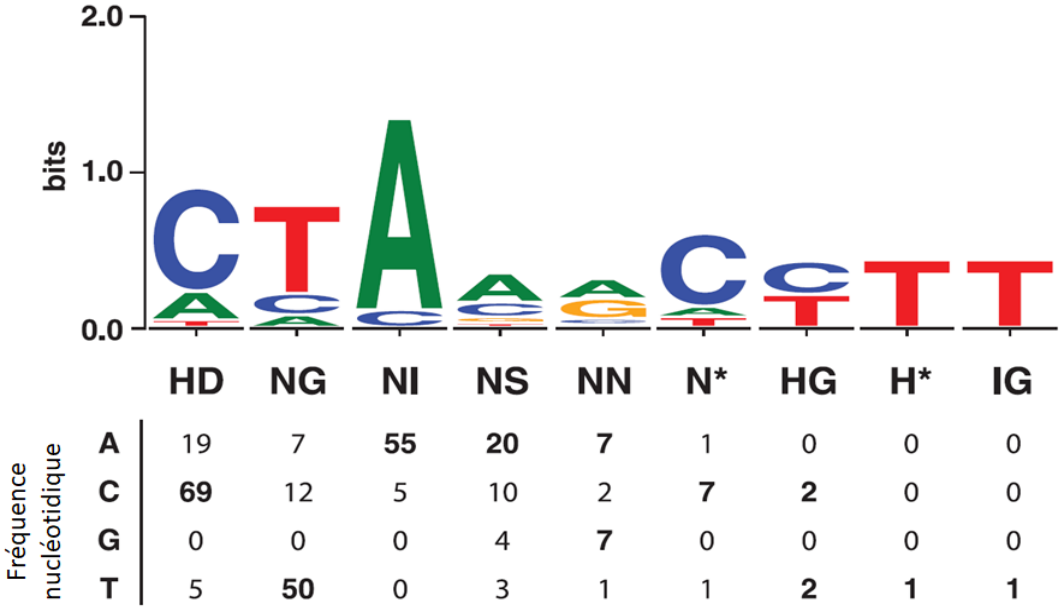


Figure 13. Fréquence des nucléotides fixés par chaque RVD. Adapté de Boch *et al.*, 2009. La taille des nucléotides est proportionnelle à leur fréquence de liaison avec les RVD de différents effecteurs TAL (AvrBs3/*Bs3*, *UPA10*, *UPA12*, *UPA14*, *UPA19*, *UPA20*, *UPA21*, *UPA23*, *UPA25*, AvrBs3Δ16/*Bs3-E*, AvrBs3Δ109/*Bs3*, AvrHah1/*Bs3*, AvrXa27/*Xa27*, PthXo1/*Xa13*, PthXo6/*OsTFX1*, et PthXo7/*OsTFIIAg1*).

les RVD qui confèrent la spécificité d'accroche (Kay *et al.*, 2007). En 2009, deux études parviennent à décrypter le code liant chaque RVD à chaque nucléotide, appelé TALE-code (Boch *et al.*, 2009; Moscou and Bogdanove, 2009, Figure 10f). A cette époque, plusieurs cibles d'effecteurs TAL sont connues, ce qui permet à Moscou et Bogdanove de construire un alignement bioinformatique entre les séquences de RVD et les séquences d'ADN ciblées (Moscou and Bogdanove, 2009). Boch *et al.* quant à eux démontrent la spécificité d'accroche de chaque RVD en utilisant un gène rapporteur GUS exprimé en fonction de l'interaction entre les RVD et les nucléotides (Boch *et al.*, 2009). Les deux approches révèlent un même code liant chaque RVD à une accroche plus ou moins spécifique à un ou plusieurs nucléotides (Figure 13). Par exemple, le RVD NI composé d'une asparagine (N) et d'une isoleucine (I) fixera préférentiellement une adénine (Figure 13). Depuis, plusieurs études ont testé la spécificité d'accroche d'autres RVD (Anderson *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2014). Cependant, la spécificité d'accroche des RVD sur l'ADN n'est pas si simple car elle peut dépendre de la position et du nombre de RVD, du contexte protéique autour des RVD, des marques épigénétiques présentes sur l'EBE ainsi que du contexte ionique (Anderson *et al.*, 2020; Cuculis *et al.*, 2019; Deng *et al.*, 2012b; Liu *et al.*, 2020; Meckler *et al.*, 2013; Rinaldi *et al.*, 2017; Rogers *et al.*, 2015). Par exemple, les RVD situés en région N terminale de la région répétée contribuent de façon plus importante à l'affinité avec l'EBE que les RVD situés en région C terminale (Meckler *et al.*, 2013).

La longueur de l'EBE ciblée dépend donc du nombre de répétitions portées par l'effecteur TAL. Par exemple, AvrBs3 est composé de 17,5 répétitions qui correspondent à une séquence de 18 nucléotides. Ainsi, le centre de l'effecteur TAL forme une séquence de RVD caractéristique, capable de se fixer sur une séquence de nucléotides bien spécifique. Une fois fixé, l'effecteur TAL induit la transcription du gène de sensibilité ce qui va favoriser l'infection (Figure 11). Pour pouvoir induire un gène cible, un effecteur TAL doit posséder au moins 6 répétitions (Boch *et al.*, 2009). La spécificité d'accroche est optimale pour un effecteur TAL possèdant entre 15 et 19 répétitions (Rinaldi *et al.*, 2017). Par ailleurs, il a été montré qu'un effecteur TAL pouvait induire la transcription de gène de sensibilité de façon bidirectionnelle, c'est à dire en se fixant sur le brin sens ou antisens (Wang *et al.*, 2017).

La structure tridimensionnelle des effecteurs TAL a d'abord été prédite comme une structure en super-hélice à partir de la séquence en acides aminés de AvrBs3 (Schornack *et al.*, 2006). Cette structure a été confirmée par des études cristallographiques qui montrent que les effecteurs TAL adoptent une structure en super hélice enroulée autour de l'ADN (Deng *et al.*, 2012a; Mak *et al.*, 2012, Figure 10h). Chaque répétition forme alors une structure en épingle à cheveux qui projette le RVD vers l'ADN cible (Figure 14). Au sein des RVD, l'acide aminé en position 12 permet de stabiliser l'interaction protéine ADN, tandis que l'acide aminé en position 13 est responsable de la spécificité d'accroche au nucléotide *via* des liaisons hydrogènes ou des interactions de Van der Walls (Doyle *et al.*, 2013b, Figure 14). De manière intéressante, la plupart des EBE des effecteurs TAL commencent par une thymine. Cette thymine en position 0 (T0) interagit avec un tryptophane (W232) ce qui améliore le fonctionnement de l'effecteur TAL (Doyle *et al.*, 2013a; Schreiber and Bonas, 2014; Stella *et al.*, 2013, Figure 12). Plus récemment, il a été montré que les effecteurs TAL recherchent leur cible en adoptant une

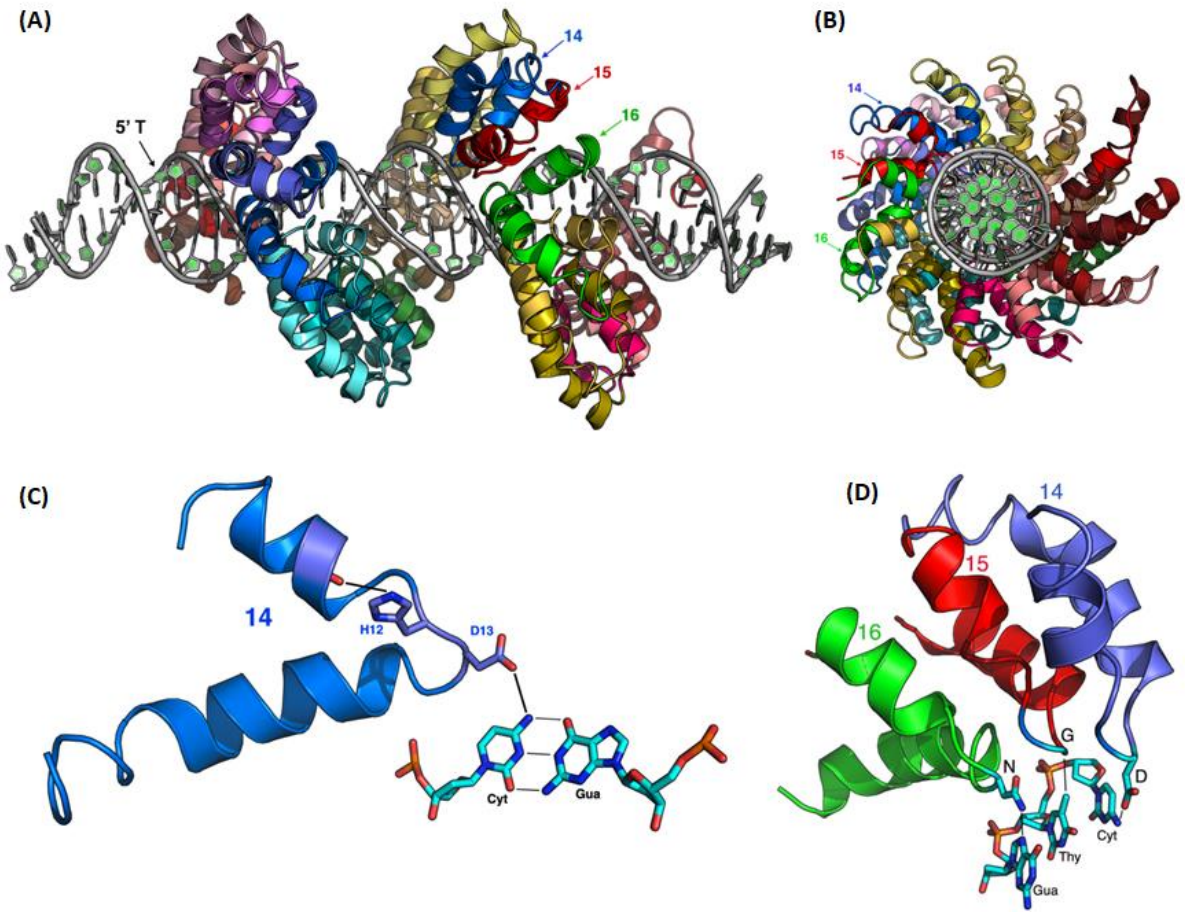


Figure 14. Structure cristallographique d'un effecteur TAL. Adapté de Doyle *et al.*, 2013b. Vue longitudinale (**A**) et transversale (**B**) de la structure en super hélice enroulée d'un effecteur TAL autour de l'ADN. Représentation de la structure en épingle à cheveux d'une répétition (**C**). L'histidine en position 12 (H12) forme une liaison hydrogène avec le résidu 8 de la première hélice, tandis que l'aspartate en position 13 (D13) est lié à une cytosine par une liaison hydrogène (**C**). Représentation de plusieurs répétitions fixant différents nucléotides (**D**). NG (en rouge) interagit avec une thymine par des interactions de Van der Walls tandis que NN (en vert) et HD (en bleu) interagissent avec une guanine et une cytosine respectivement, *via* des liaisons hydrogènes.

structure en super hélice détendue qui leur permet de glisser le long de l'ADN tout en maintenant des liaisons avec celui ci, ou bien de sauter en se détachant brièvement de l'ADN (Cuculis *et al.*, 2015, 2016, Figure 10j). Lorsque l'effecteur TAL trouve sa cible, sa structure en super hélice va se resserrer, pour former une super hélice compressée permettant de s'accrocher aux nucléotides ciblés (Cuculis *et al.*, 2015, 2016).

2.2.1.2. Le rôle des effecteurs TAL dans la sensibilité

Les effecteurs TAL se comportent comme des facteurs de transcription eucaryotes (Kay *et al.*, 2007). Ils ont pour rôle d'induire un gène de sensibilité chez la plante afin de promouvoir l'infection en court-circuitant les défenses basales de la plante et/ou en modifiant le métabolisme des cellules végétales en faveur du développement de la bactérie (Muñoz-Bodnar *et al.*, 2014). Chaque souche possède un nombre variable d'effecteurs TAL (Tableau 3), et seulement quelques effecteurs sont significativement importants pour l'agressivité des souches. Par exemple, la mutation de AvrXa7 rend les souches de *Xoo* incapables d'induire des symptômes sur le riz, ce qui souligne l'importance du gène de sensibilité ciblé pour le développement de la maladie (Yang and White, 2004).

Pour trouver les cibles des effecteurs TAL, des logiciels de prédictions de cibles ont été construits tels que TALVEZ (Pérez-Quintero *et al.*, 2013), Targeter 2.0 (Doyle *et al.*, 2012), TALgetter (Grau *et al.*, 2013), ou encore TargeTALE (Kremer *et al.*, 2019). Ces logiciels s'appuient sur le TALE-code, et peuvent prendre en compte d'autres paramètres influençant la spécificité d'accroche d'un effecteur TAL sur son EBE (Boch *et al.*, 2009; Moscou and Bogdanove, 2009). Par exemple, ces logiciels priorisent les EBE commencant par une thymine (T0), TALVEZ peut réduire l'importance des nucléotides situés en fin d'EBE tandis que TALgetter prend en compte uniquement l'acide aminé en position 13 du RVD pour déterminer la spécificité d'accroche à un nucléotide. De nombreux paramètres peuvent être différemment pris en compte dans les algorithmes de prédiction de cibles, ce qui limite l'efficacité de prédiction des EBE et engendre des résultats différents entre les logiciels pour un même effecteur TAL.

Plusieurs études ont montré que des effecteurs de différents agents phytopathogènes ciblent les mêmes voies chez les plantes (Carella *et al.*, 2018; Jwa and Hwang, 2017; Mukhtar *et al.*, 2011; Weßling *et al.*, 2014). C'est aussi le cas des effecteurs TAL, qui induisent des gènes aux fonctions similaires (Tableau 4, Figure 10d). En effet, la grande majorité des cibles découvertes sont des transporteurs de sucre de la famille SWEET ou des facteurs de transcription. A ce jour, au moins 10 effecteurs TAL issus de quatre pathovars différents de *Xanthomonas* sont capables d'induire des gènes *SWEET* dans plusieurs espèces végétales (Tableau 4). De plus, chez *Xoo*, quatre effecteurs TAL (AvrXa7, PthXo3, TalC et Tal5) peuvent induire la transcription d'un même transporteur de sucre chez le riz : *OsSWEET14* (Antony *et al.*, 2010; Römer *et al.*, 2010; Streubel *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2011). De façon intéressante, ces effecteurs ciblent des EBE différentes dans le promoteur de *OsSWEET14*, ce qui montre une convergence évolutive de ces effecteurs TAL vers la même cible, et appuie l'importance de ce type de cible pour favoriser la maladie (Streubel *et al.*, 2013). Les protéines SWEET sont impliquées dans l'efflux extracellulaire de saccharose (Chen, 2014; Chen *et al.*, 2010, 2012), leur induction par des

Tableau 4. Fonctions et gènes ciblés par des effecteurs TAL.

Fonction ciblée	Gène ciblé	Effecteur TAL	Espèce de *Xanthomonas*	Plante hôte	Référence
Facteur de transcription	*OsTFX1*	PthXo6, TalB	*Xoo*	Riz	Römer *et al.*, 2010; Sugio *et al.*, 2007; Tran *et al.*, 2018
	OsERF#123	TalB	*Xoo*	Riz	Tran *et al.*, 2018
	OsTFIIAy1	PthXo7	*Xoo*	Riz	Sugio *et al.*, 2007
	CsLOB1	PthA	*Xcc*	Agrumes	Abe and Benedetti, 2016; Hu *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2014b; Pereira *et al.*, 2014
	CsLOB1	PthB, PthC	*Xca*	Agrumes	Al-Saadi *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2014
	CsLOB2	PthA	*Xcc*	Agrumes	Abe and Benedetti, 2016; Pereira *et al.*, 2014
	upa20	AvrBs3	*Xe*	Poivrons et Tomates	Kay *et al.*, 2007
	bHLH3, bHLH6	AvrHah1	*Xg*	Tomate	Schwartz *et al.*, 2017
Transporteur de sucre	*Xa13 (SWEET11, Os8N3)*	PthXo1	*Xoo*	Riz	Antony *et al.*, 2010; Chu *et al.*, 2006; Römer *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2006
	Xa25 (SWEET13, Os12N3)	PthXo2, Tal5, Tal7	*Xoo*	Riz	Xu *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2015
	Xa41 (SWEET14, Os11N3)	AvrXa7, PthXo3, TalC, Tal5	*Xoo*	Riz	Antony *et al.*, 2010; Römer *et al.*, 2010; Streubel *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2011
	CsSWEET1	PthA	*Xcc*	Agrumes	Hu *et al.*, 2014
	MeSWEET10a	TAL20	*Xpm*	Manioc	Cohn *et al.*, 2014
	GhSWEET10	Avrb6	*Xcm*	Coton	Cox *et al.*, 2017
Dioxygénase	*CsDIOX*	PthA	*Xcc*	Agrumes	Abe and Benedetti, 2016
	TaNCED-5BS	Tal8	*Xtu*	Blé	Peng *et al.*, 2019
Stabilités des miRNA	*OsHEN1*	PthXo8	*Xoo*	Riz	Moscou and Bogdanove, 2009; Pérez-Quintero *et al.*, 2013
	OsHEN1	Tal1C	*Xoc*	Riz	Moscou and Bogdanove, 2009; Pérez-Quintero *et al.*, 2013
Transporteur de sulfate	*OsSULTR3;6*	Tal2g	*Xoc*	Riz	Cernadas *et al.*, 2014
Cycline D4-1	*Os09g29100*	Tal7	*Xoc*	Riz	Cai *et al.*, 2017
Protéine transmembranaire associée au RE	*Xa10**	AvrXa10	*Xoo*	Riz	Tian *et al.*, 2014
	*Xa23**	AvrXa23	*Xoo*	Riz	Wang *et al.*, 2014, 2015a
	*Bs4C**	AvrBs4	*Xe*	Poivrons	Strauß *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2018a
Signal d'encrage en N terminal	*Xa27**	AvrXa27	*Xoo*	Riz	Gu *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2008
Flavine mono-oxygénase	*Bs3**	AvrBs3	*Xe*	Poivrons	Römer *et al.*, 2007
	*Bs3**	AvrHah1	*Xg*	Poivrons	Schornack *et al.*, 2008
Fonction inconnue	*Cs4**	PthA4^{AT}	*Xcc*	Agrumes	Roeschlin *et al.*, 2019

Les gènes exécuteurs sont indiqués par un astérisque. *Xoo* : *X. oryzae* pv. *oryzae*, *Xoc* : *X. oryzae* pv. *oryzicola*, *Xtu* : *X. translucens* pv. *undulosa*, *Xcc* : *X. citri* pv. *citri*, *Xc* : *X. citri*, *Xca* : *X. citri* pv. *aurantifolii*, *Xcv* : *X. euvesicatoria*, *Xg* : *X. gardneri*, *Xpm* : *X. phaseoli* pv. *manihotis* et *Xcm* : *X. citri* pv. *malvacearum*.

effecteurs TAL pourrait donc augmenter l'export de sucre par les plantes. Cette ressource carbonée serait alors disponible à l'extérieur des cellules pour nourrir les bactéries et favoriser leur multiplication ce qui aggrave l'infection (Chen, 2014). De nombreux facteurs de transcription ont également été décrits comme des cibles d'effecteurs TAL (Tableau 4). La première cible qui a été découverte comme impliquée dans l'apparition des symptômes correspond au gène *upa20* induit par AvrBs3 chez le poivron (Kay *et al.*, 2007). Ce gène correspond à un facteur de transcription de la famille des *bHLH* et est impliqué dans l'hypertrophie des cellules du mésophylle. Une autre étude a également montré que l'effecteur TAL AvrHah1 de *X. gardeni* induit l'expression de deux facteurs de transcription bHLH (bHLH3 et bHLH6, Schwartz *et al.*, 2017). L'induction de ces facteurs de transcription permet d'induire le gène codant une pectate lyase responsable de l'apparition des symptômes de graisse sur tomates. Les facteurs de transcription de la famille LOB (Lateral Organ Boundaries) représentent aussi des cibles importantes pour les effecteurs TAL PthA, PthB et PthC de *X. citri* (Abe and Benedetti, 2016; Hu *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2014b; Pereira *et al.*, 2014). Une aggravation des symptômes sur agrumes a été observée lorsque *CsLOB1* et *CsLOB2* sont induit par ces effecteurs (Abe and Benedetti, 2016; Hu *et al.*, 2014). Le rôle de ces facteurs de transcription dans la maladie n'a pas encore été élucidé, néanmoins ces gènes seraient impliqués dans de nombreux processus liés aux hormones ou encore au développement des organes, et sont nécessaires à la formation de pustules caractéristiques du chancre bactérien sur agrumes (Gendron *et al.*, 2012; Majer and Hochholdinger, 2011). Des facteurs de transcription bZIP (*OsTFX1*) ou ERF (*OsERF#123*) sont également induits par différents effecteurs TAL de *Xoo* chez le riz (Römer *et al.*, 2010; Sugio *et al.*, 2007; Tran *et al.*, 2018). Enfin, PthXo7 de *Xoo* cible un facteur de transcription associé à l'ARN polymérase (*OsTFIIAγ1*), ce qui pourrait alors favoriser le fonctionnement d'autres effecteurs TAL (Sugio *et al.*, 2007) (cf. partie 2.2.1.3.1).

D'autres gènes de sensibilité ont été identifiés comme des cibles d'effecteurs TAL. PthXo8 de *Xoo* et Tal1C de *Xoc* sont capables d'induire *OsHEN1* impliqué dans la stabilisation des miRNA chez le riz (Moscou and Bogdanove, 2009; Pérez-Quintero *et al.*, 2013). Le gène *CsDIOX* est induit chez les agrumes par PthA1, PthA3 et PthA4 de *Xcc* (Abe and Benedetti, 2016). Ce gène code une dioxygénase impliquée dans l'apparition des symptômes de chancre sur agrumes. Également, le gène *TaNCED-5BS* codant une 9-cis-époxy carotenoide dioxygénase chez le blé est induit par Tal8 de *X. translucens* (Peng *et al.*, 2019). Cette dioxygénase catalyse la réaction limitante de la synthèse d'acide abscissique (ABA). Lors de son induction par Tal8, le niveau d'ABA augmente alors que le gène *NPR1* lié aux défenses est réprimé. Ces changements physiologiques chez le blé sont corrélés à l'apparition des symptômes. Enfin, Tal7 de *Xoc* peut induire un gène codant une cycline de type D (*Os09g29100*) chez le riz (Cai *et al.*, 2017), tandis que Tal2g de *Xoc* est capable d'induire un gène codant un transporteur de sulfate (*OsSULTR3*;6) chez le riz (Cernadas *et al.*, 2014). Ces deux cibles favorisent l'apparition des symptômes. L'induction du transporteur de sulfate OsSULTR3;6 engendrerait une modification de l'homéostasie ou une altération des capacités oxydatives des cellules végétales, tandis que la cycline de type D permet de bloquer les défenses déclenchées par l'interaction AvrXa7-*Xa7* (Cai *et al.*, 2017; Cernadas *et al.*, 2014).

Ces études montrent que les effecteurs TAL ciblent des gènes dont on ne comprend pas toujours le rôle exact dans le développement de la maladie. De récentes études montrent qu'ils

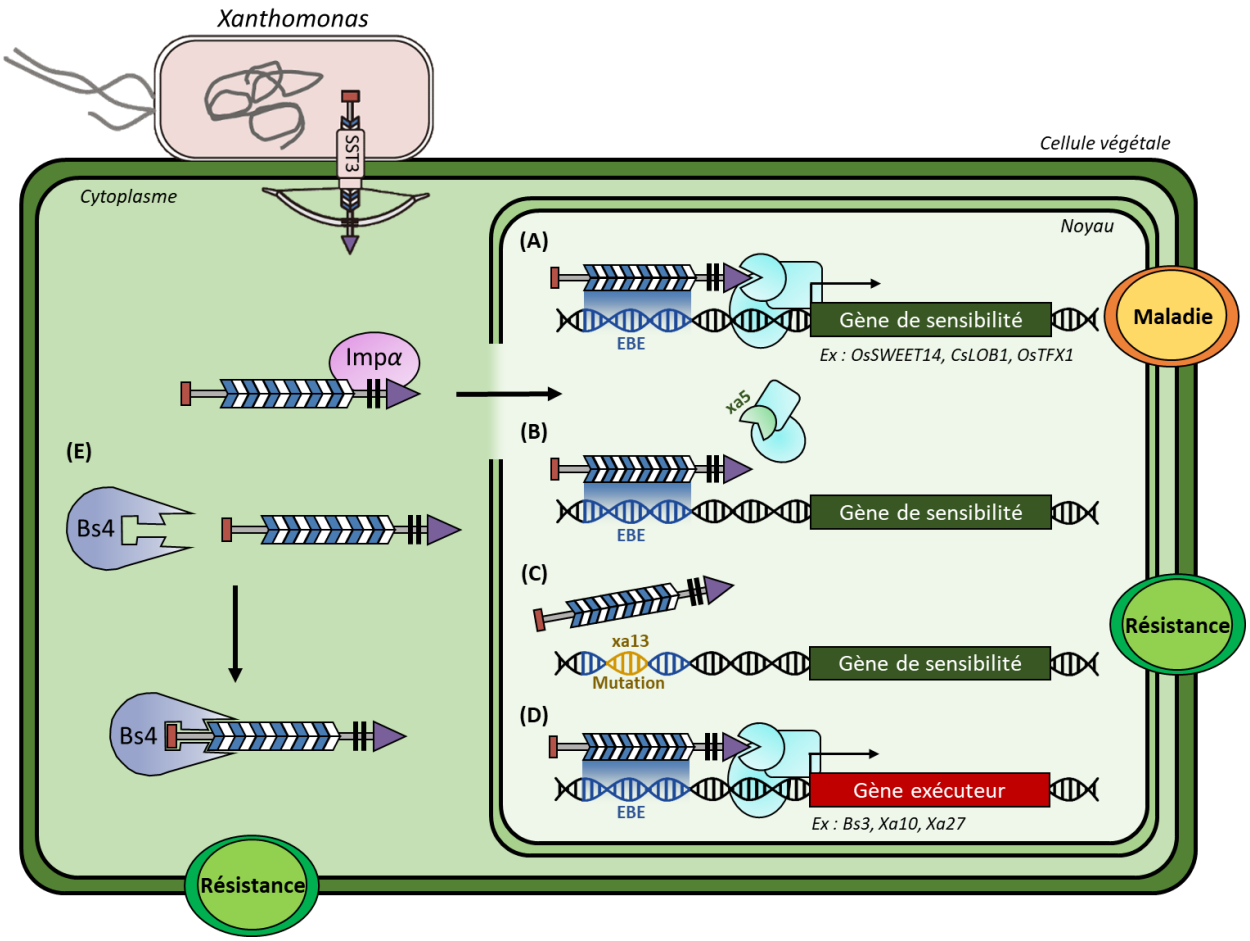


Figure 15. Les différents mécanismes de résistance aux effecteurs TAL. Adapté de Bogdanove *et al.*, 2010 et Xue *et al.*, 2020. Les effecteurs TAL sont injectés dans la cellule végétale *via* le SST3 puis sont adressés au noyau grâce à leurs domaines NLS reconnus par des importines alpha (Impα). Dans le cas d'une interaction compatible, l'effecteur TAL va s'accrocher sur son EBE afin d'induire la transcription d'un gène de sensibilité ce qui va favoriser la maladie (**A**). Plusieurs mécanismes de résistance aux effecteurs TAL existent. L'effecteur TAL peut être incapable de recruter l'ARN polymérase (**B**) ou de reconnaître son EBE (**C**) à cause de mutations, ce qui engendre de la résistance par perte de sensibilité. L'EBE d'un effecteur TAL peut se trouver devant un gène exécuteur capable de déclencher l'ETI (**D**). La structure des effecteurs TAL peut être reconnue par des protéines de résistance qui déclenchent l'ETI (**E**).

pourraient aussi être impliqués dans la compétition entre microorganismes ou encore dans la mise en place d'endosymbioses entre une bactérie et un champignon. Par exemple, il a été montré que l'effecteur RipTAL Brg11 présent chez *Ralstonia solanacearum* cible le gène *ADC* (Arginine décarboxylase) chez la tomate, ce qui permet d'augmenter le niveau de putrescine et de polyamines (Wu *et al.*, 2019). Ces métabolites permettraient alors de défavoriser d'autres bactéries du microbiote. Le gène cible est alors considéré comme un gène "niche-enhancing" car son induction par Brg11 permet de favoriser l'installation de *Ralstonia* dans une niche écologique en diminuant la compétition avec d'autres bactéries. Aussi, il a été montré qu'une protéine similaire aux effecteurs TAL (Blt19-13) était présente chez la bactérie *Mycetohabitans rhizoxinica* du genre *Burkholderia*. Cette bactérie est capable d'endosymbiose avec le champignon *Rhizopus microsporus*. L'effecteur Blt19-13 permettrait d'améliorer la résistance du champignon aux stress membranaires tout en favorisant l'endosymbiose (Carter *et al.*, 2020).

2.2.1.3. La résistance aux effecteurs TAL et son contournement

Le rôle primaire des effecteurs TAL est d'induire des gènes de sensibilité pour promouvoir l'infection, cependant au cours de l'évolution, les plantes ont développé différents mécanismes de résistance à ces effecteurs afin de déclencher les défenses (Figure 10e et 15).

2.2.1.3.1. La résistance par perte de sensibilité

L'une des stratégies les plus simples pour résister aux effecteurs TAL consiste à modifier l'EBE ciblée afin d'empêcher leur fixation (Figure 15C). Cette résistance est une résistance par perte de sensibilité, car l'effecteur sera incapable de reconnaître l'EBE modifiée et d'induire la transcription du gène de sensibilité. A ce jour, seules trois EBE modifiées ont été découvertes chez le riz (*xa13*, *xa25* et *xa41*) et permettent d'engendrer de la résistance à *Xoo* (Cheng *et al.*, 2017; Chu *et al.*, 2006; Hutin *et al.*, 2015a, 2015b; Liu *et al.*, 2011; Römer *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2015). Les gènes *xa13*, *xa25* et *xa41* sont définis comme des gènes de résistance récessifs représentants des allèles des gènes *OsSWEET11*, *OsSWEET13* et *OsSWEET14* respectivement. L'allèle *xa13* diffère de l'allèle *Xa13* par une substitution au sein de l'EBE de PthXo1 (Römer *et al.*, 2010), tandis que l'allèle *xa25* diffère de l'allèle *Xa25* par une délétion d'un nucléotide dans l'EBE de PthXo2 (Zhou *et al.*, 2015). Ces deux allèles montrent que la modification d'un seul nucléotide peut engendrer de la résistance par perte de sensibilité. L'allèle *xa41* quant à lui, présente une délétion de 18 nucléotides qui touche les EBE de AvrXa7 et Tal5, conférant ainsi une résistance à ces deux effecteurs (Hutin *et al.*, 2015b). Ces résistances récessives ont pu être exploitées par les sélectionneurs afin de développer des résistances chez le riz contre *Xanthomonas* (Kumar *et al.*, 2020). Par ailleurs, il a aussi été montré que des mutations induites dans l'EBE des gènes cibles tels que les gènes *OsSWEET* ou *CsLOB* permettent d'engendrer de la résistance (Blanvillain-Baufumé *et al.*, 2017; Jia *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2012; Peng *et al.*, 2017; Sun *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2019).

Cependant, cette résistance par perte de sensibilité n'est pas simple à mettre en place, car les mutations présentes dans les EBE ne doivent pas altérer la régulation des gènes cibles (Hutin *et al.*, 2015a). Or, les effecteurs TAL ciblent très souvent des motifs conservés et importants pour la régulation des gènes tels que la TATA box ou la TC box (Grau *et al.*, 2013; Pérez-Quintero *et al.*, 2013). De plus, il est possible que la mutation ne soit pas suffisante pour empêcher

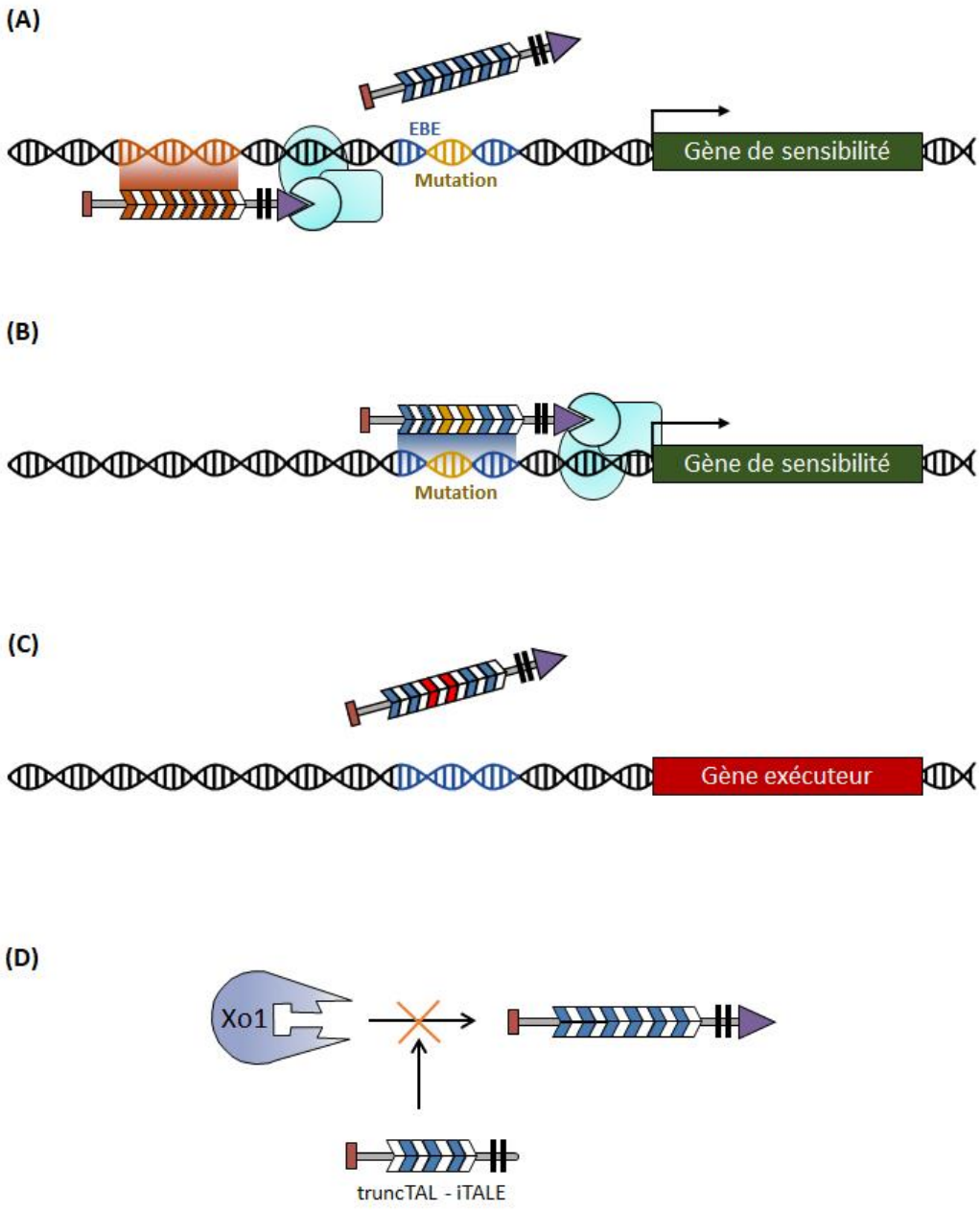


Figure 16. Mécanismes de contournement de la résistance aux effecteurs TAL. Lorsque l'EBE est mutée, d'autres effecteurs TAL peuvent cibler une autre EBE du gène de sensibilité pour en induire la transcription (**A**), ou bien l'effecteur TAL peut muter pour s'adapter à cette EBE modifiée (**B**). Les effecteurs TAL ciblant des gènes exécuteurs peuvent muter afin de ne plus s'accrocher sur les EBE présentes devant ces gènes (**C**). Des effecteurs TAL tronqués dépourvus de domaine AD mais portant des signaux NLS peuvent empêcher la reconnaissance d'un effecteur TAL par une protéine NLR comme Xo1 (**D**).

l'interaction entre l'effecteur TAL et son EBE. En effet, le TALE-code n'est pas strict, ce qui permet aux effecteurs TAL de s'adapter à des EBE légèrement différentes de leur EBE idéale (Boch *et al.*, 2009; Moscou and Bogdanove, 2009). Certains effecteurs TAL présentent des répétitions de longueur aberrantes de 30, 39, 40 ou 42 acides aminés (Boch and Bonas, 2010), qui leur permettent d'être plus flexibles et de pouvoir s'adapter à des EBE légèrement modifiées (Richter *et al.*, 2014). Les effecteurs TAL peuvent aussi évoluer rapidement, car leur région centrale répétée favorise les recombinaisons (Yang *et al.* 1995, Schandry *et al.* 2018). De ce fait, un effecteur TAL peut rapidement modifier ces RVD pour s'adapter à une mutation dans une EBE. Enfin, pour contourner la résistance par mutation d'EBE, une même souche de *Xanthomonas* peut posséder plusieurs effecteurs TAL ciblant différentes EBE d'un même gène cible (Figure 16A). C'est le cas par exemple de AvrXa7, PthXo3, TalC et Tal5 capablent de cibler *OsSWEET14*, et de PthXo2, Tal5 et Tal7 capables de cibler *OsSWEET13* chez le riz (Antony *et al.*, 2010; Römer *et al.*, 2010; Streubel *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2019; Yu *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2015). Dans ce cas, la résistance par mutation d'EBE est donc d'autant plus complexe à mettre en place, car de nombreuses EBE doivent être mutées efficacement afin de pouvoir bloquer l'action de ces effecteurs tout en ne modifiant pas les éléments régulateurs du gène ciblé (Xu *et al.*, 2019).

Une autre façon de résister par perte de sensibilité consiste à posséder un variant de la sous-unité gamma du facteur de transcription TFIIA (Figure 15B). Chez le riz, le gène *xa5* code un variant de cette sous-unité et permet de résister à *Xoo* (Iyer and Mccouch, 2004). Dans ce cas l'effecteur TAL est incapable d'interagir avec la protéine xa5, et ne peut donc plus recruter l'ARN polymérase pour induire la transcription du gène de sensibilité (Yuan *et al.*, 2016). Par exemple, cet allèle *xa5* permet de bloquer l'induction de *OsSWEET13* et *OsSWEET14* par PthXo2 et AvrXa7, ce qui donne lieu à une interaction incompatible entre *Xoo* et le riz (Huang *et al.*, 2016). Récemment, il a été montré que la mutation ou la délétion du gène dominant *Xa5* notamment par la technologie TALEN permettait d'engendrer de la résistance à *Xoo* chez le riz (Han *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2016, cf. partie 2.2.1.3.1).

Cependant, certains effecteurs TAL se sont adaptés à l'allèle *xa5* qui code une sous-unité modifiée TFIIAγ5 de l'ARN polymérase. C'est le cas de PthXo1 qui peut interagir avec cette sous-unité modifiée afin d'induire des symptômes (Huang *et al.*, 2016; Yuan *et al.*, 2016). De plus, l'induction d'une autre sous-unité (TFIIAγ1) par l'effecteur TAL PthXo7 peut compenser l'absence de TFIIAγ5 fonctionnelle (Ma *et al.*, 2018b), ce qui permet à PthXo1, AvrXa7 et AvrXa27 d'induire leur gène de sensibilité chez des riz *xa5* (Ma *et al.*, 2018b, Figure 16D). Les effecteurs TAL peuvent donc collaborer afin de favoriser la maladie, et la résistance/sensibilité de la plante va donc dépendre du répertoire d'effecteurs de la souche pathogène.

2.2.1.3.2. La résistance par détection des effecteurs TAL

L'effecteur TAL peut être aussi être reconnu directement par des protéines de résistance comme un épitope (Figure 15E). Ce mécanisme a été décrit pour le gène *Bs4* de la tomate qui code une protéine NLR capable de reconnaître AvrBs4 natif ou tronqué et AvrBs3 de *X. euvesicatoria* (Schornack *et al.*, 2004, 2006). Cette reconnaissance a lieu dans le cytoplasme des cellules végétales, elle est dépendante de EDS1 et SGT1, et permet de déclencher une HR. Les gènes

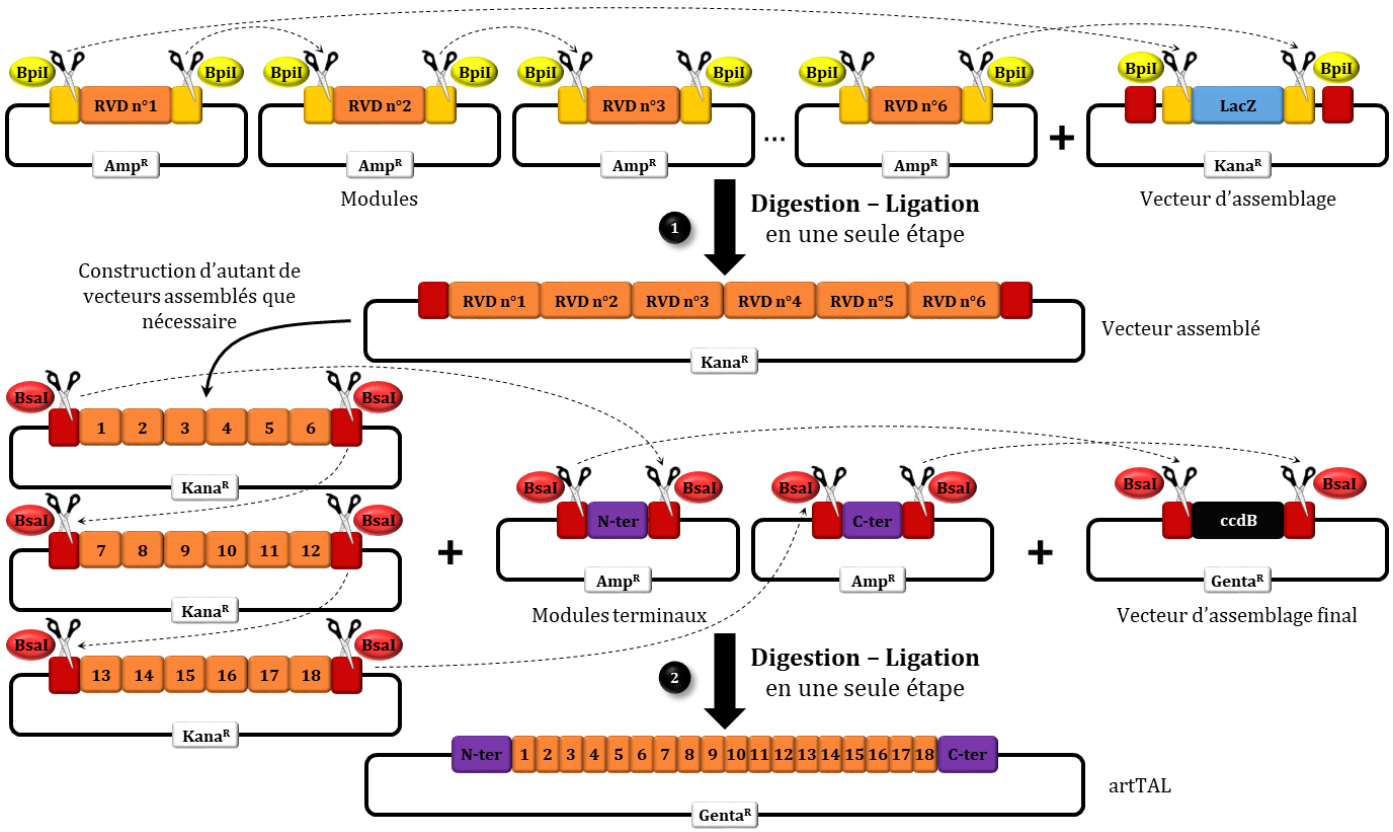


Figure 17. Méthodologie de construction d'un effecteur TAL artificiel. De Ruh, 2017, adapté de Cermak *et al.*, 2011. Pour construire un effecteur TAL artificiel ou designer TALE (dTALE), différents modules présents dans des vecteurs sont nécessaires. Il existe un module contenant la partie N terminale, un module contenant la partie C terminale et des modules contenants les répétitions avec les différents RVD possibles d'un effecteur TAL. La première étape consiste en l'assemblage de six répétitions dans un vecteur contenant le gène *lacZ* par digestion/ligation à l'aide de l'enzyme de restriction BpiI (**1**). Le vecteur construit est transformé dans des bactéries compétentes, seules les colonies blanches sont sélectionnées témoignant d'un vecteur correctement assemblé ne portant plus de gène *lacZ* fonctionnel. La deuxième étape consiste en l'assemblage de plusieurs modules de l'étape 1, de la région C terminale et de la région N terminale dans un vecteur contenant le gène *ccdB* par digestion/ligation à l'aide de l'enzyme de restriction BsaI (**2**). Le vecteur final est transformé dans des bactéries compétentes, qui sont ensuite sélectionnées par le gène *ccdB* responsable de mort cellulaire et par la résistance à la gentamicine.

Xo1 et *Xa1* chez le riz code aussi des NLR suspectés de reconnaître les effecteurs TAL (Ji *et al.*, 2016; Read *et al.*, 2020; Triplett *et al.*, 2016). Contrairement à Bs4 qui agit dans le cytoplasme, Xo1 reconnaîtrait les effecteurs TAL au niveau nucléaire (Read *et al.*, 2020). Plusieurs études ont montré qu'il existait chez *Xoo* et *Xoc* des effecteurs TAL tronqués appelés iTALE (interference Transcription Activator-Like effector) ou truncTAL (truncated Transcription Activator-Like effector) considérés auparavant comme des pseudogènes (Ji *et al.*, 2016; Read *et al.*, 2016). Ces effecteurs supposés non fonctionnels peuvent être tronqués au niveau C et N terminal, ils ne possèdent pas de domaine AD et peuvent porter des répétitions aberrantes de 28 acides aminés. Il a été montré que les truncTAL ou iTALE sont capables de bloquer la résistance médiée par les NLR Xa1 et Xo1 (Ji *et al.*, 2016; Read *et al.*, 2016, Figure 16E). Le domaine NLS de ces truncTAL ou iTALE semble important pour leur fonctionnement, ce qui laisse penser qu'ils agissent au niveau nucléaire tout comme Xa1 et Xo1 (Read *et al.*, 2016, 2020). Les truncTAL ou iTALE pourraient donc interagir directement avec les protéines NLR qui reconnaissent les effecteurs TAL. Cette interaction empêcherait le déclenchement des réactions de défenses, et éviterait la séquestration d'effecteurs TAL fonctionnels afin qu'ils puissent jouer leur rôle d'inducteurs de transcription.

2.2.1.3.3. L'induction de résistance par les effecteurs TAL

Enfin, certains effecteurs TAL induisent la transcription de gènes de résistance alors appelés gènes exécuteurs (Figure 15D, Tableau 4). Cette stratégie permet à la plante de piéger les effecteurs TAL en plaçant des EBE devant des gènes de résistance afin que les effecteurs en induisent la transcription (Zhang *et al.*, 2015). Le premier effecteur TAL décrit (AvrBs3) a été découvert grâce à ce mécanisme, car cet effecteur cible le gène de résistance *Bs3*, ce qui conduit à une interaction incompatible entre le poivron et *X. euvesicatoria* (Bonas *et al.*, 1989; Römer *et al.*, 2007). *Bs3* code une flavine mono-oxygénase et peut également être induit par AvrHah1 de *X. gardneri* chez la tomate (Schornack *et al.*, 2008). Des gènes exécuteurs ont aussi été découverts chez le poivron, le riz ou encore les agrumes (Gu *et al.*, 2005; Roeschlin *et al.*, 2019; Strauß *et al.*, 2012; Tian *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015a). De façon intéressante, le gène éxécuteur *Cs4* est induit par l'effecteur PthA4^{AT} qui ne comporte que 7.5 répétitions, ce qui montre que les effecteurs TAL peuvent fonctionner même avec très peu de répétitions. De façon étonnante, les gènes exécuteurs induits par les effecteur TAL ne sont pas des PRR ou des NLR, mais des gènes aux fonctions diverses (Tableau 4). Par exemple, *Xa10*, *Xa23* et *Bs4C* codent des protéines transmembranaires impliquées dans la déplétion de Ca^{2+} au niveau du réticulum endoplasmique (Tian *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2018a). Ces protéines induiraient donc la résistance en modifiant la régulation du calcium intracellulaire. La découverte des gènes exécuteurs a permis aux sélectionneurs de développer des variétés résistance à *Xanthomonas*, notamment chez le riz (Kumar *et al.*, 2020; Luo *et al.*, 2012). Des EBE de plusieurs effecteurs TAL ont été placées devant des gènes de résistance afin d'augmenter la résistance des plantes à *Xanthomonas* (Hummel *et al.*, 2012; Zeng *et al.*, 2015). Du point de vue de l'amélioration variétale, l'utilisation de gènes de résistance inductibles par des effecteurs bactériens est avantageuse par rapport à l'utilisation de gènes de résistance classique, car les gènes de résistance classique consomment plus d'énergie au détriment du développement de la plante (Schandry *et al.*, 2018).

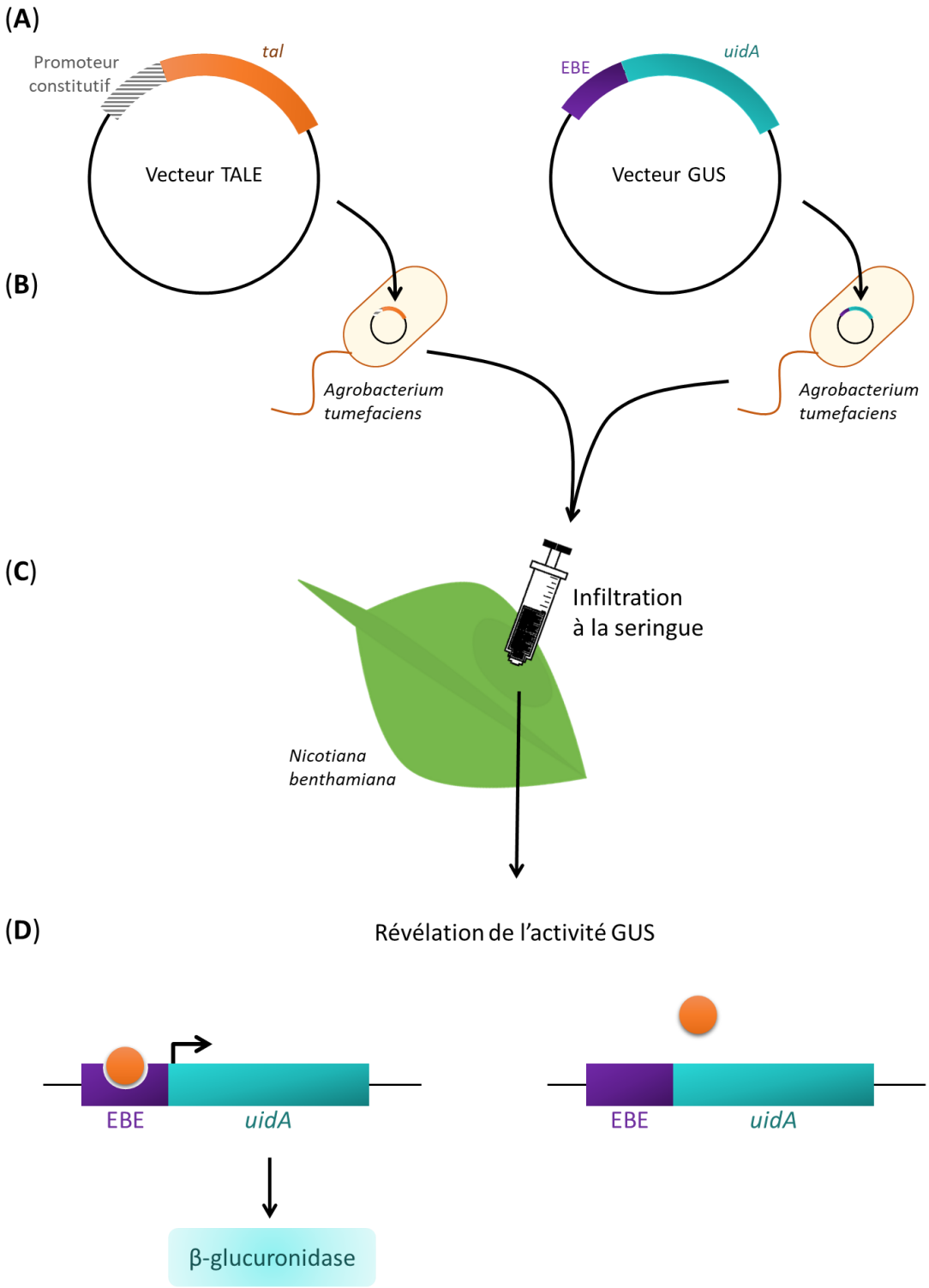


Figure 18. Méthode d'évaluation de l'interaction d'un effecteur TAL avec sa cible basée sur l'utilisation du gène rapporteur GUS. La première étape consiste en la construction d'un vecteur TALE permettant l'expression constitutive d'un effecteur TAL, et d'un vecteur GUS contenant le gène *uidA* (GUS) précédé d'une EBE à tester (**A**). Les deux vecteurs sont introduits dans *Agrobacterium tumefaciens* (**B**). Puis les deux souches transformées d'*Agrobacterium tumefaciens* sont co-inoculées par infiltration à la seringue dans des feuilles de tabac (**C**). L'activité GUS est évaluée deux jours plus tard dans les zones infiltrées (**D**). Si l'effecteur TAL s'accroche sur l'EBE testée alors le gène *GUS* est transcrit et permet la production de l'enzyme β-glucuronidase responsable de l'activité GUS.

Pour lutter contre la résistance médiée par les gènes exécuteurs, les *Xanthomonas* peuvent perdre ou muter certains effecteurs TAL pour éviter d'induire ces gènes exécuteurs (Figure 16C). Par exemple, AvrXa10 de *Xoo* est capable d'induire le gène exécuteur *Xa10* ce qui engendre de la résistance. De façon intéressante, la mutation ou la perte de AvrXa10 chez *Xoo* déclenche la maladie, et n'engendre pas de perte de fitness chez la bactérie (Vera Cruz *et al.*, 2000), ce qui pose la question de la durabilité d'une telle résistance.

2.2.1.4. Les effecteurs TAL comme outils biotechnologiques

L'utilisation des effecteurs TAL comme outil biotechnologique a été envisagée dès que le TALE-code a été découvert (Boch *et al.*, 2009; Moscou and Bogdanove, 2009). Les effecteurs TAL présentent l'avantage de pouvoir cibler une séquence précise de l'ADN, et la séquence ciblée est modulable en fonction du nombre et du type de RVD qui composent l'effecteur. Connaissant la spécificité d'accroche de chaque RVD sur chaque nucléotide, il est possible de construire des effecteurs TAL artificiels (ou designer TALE : dTALE) contenant une suite de RVD ciblant une séquence d'ADN précise dans un génome. Les dTALEs sont construits grâce à la technique Golden Gate à partir de différents modules qui s'assemblent dans un ordre précis (Boch *et al.*, 2009; Engler *et al.*, 2009; Morbitzer *et al.*, 2010, 2011; Weber *et al.*, 2011, Figure 17). Il existe un module contenant la partie N terminale, un module contenant la partie C terminale et des modules contenants les répétitions avec les différents RVD possibles d'un effecteur TAL. Grâce à des enzymes de restriction capables de générer des bouts collants non-identiques, il est possible d'assembler une suite de répétitions dans un ordre précis afin de former une séquence caractéristique de RVD pouvant cibler une séquence spécifiques d'ADN. Le premier dTALE construit en 2009 a permis de décrypter le TALE-code par une méthode utilisant le gène rapporteur *GUS* au sein de l'interaction *Agrobacterium tumefaciens*-tabac (Boch *et al.*, 2009, Figure 18). Cette technique nécessite la construction de deux vecteurs, l'un portant un dTALE exprimé constitutivement et l'autre portant le gène *uidA* (GUS) précédé d'une EBE à tester. Les deux vecteurs sont transférés dans des bactéries *Agrobacterium tumefaciens*, qui sont ensuite co-infiltrées sur feuille de tabac. L'activité GUS est mesurée deux jours après infiltration. Ainsi, si l'effecteur TAL produit par le premier vecteur s'accroche sur l'EBE du deuxième vecteur, il y aura production de β-glucuronidase responsable de l'activité GUS. Cette technique est encore utilisée pour valider la capacité d'un effecteur TAL à induire la transcription en ciblant une EBE testée (Cai *et al.*, 2017).

Les effecteurs TAL sont des inducteurs naturels de la transcription. Cette capacité peut être optimisée dans d'autres organismes que les plantes grâce à des dTALEs fusionnés avec des domaines d'activation de la transcription tels que VP16 ou VP64 issus du virus de l'herpès (Geißler *et al.*, 2011; Moore *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2011, Figure 19A). Les effecteurs TAL peuvent aussi être utilisés comme des répresseurs de la transcription lorsqu'ils sont fusionnés avec des domaines appelés SID (mSin Interaction Domain), KRAB (Kruppel-Associated Box) ou encore SRDX (EAR-repression domain) (Cong *et al.*, 2012; De Lange *et al.*, 2014; Lin *et al.*, 2016; Mahfouz *et al.*, 2012).

L'une des applications les plus prometteuses est la technologie TALEN (TAL effector nucleases) qui associe des dTALE à l'endonucléase FokI afin d'induire des mutations dans des séquences d'ADN cibles

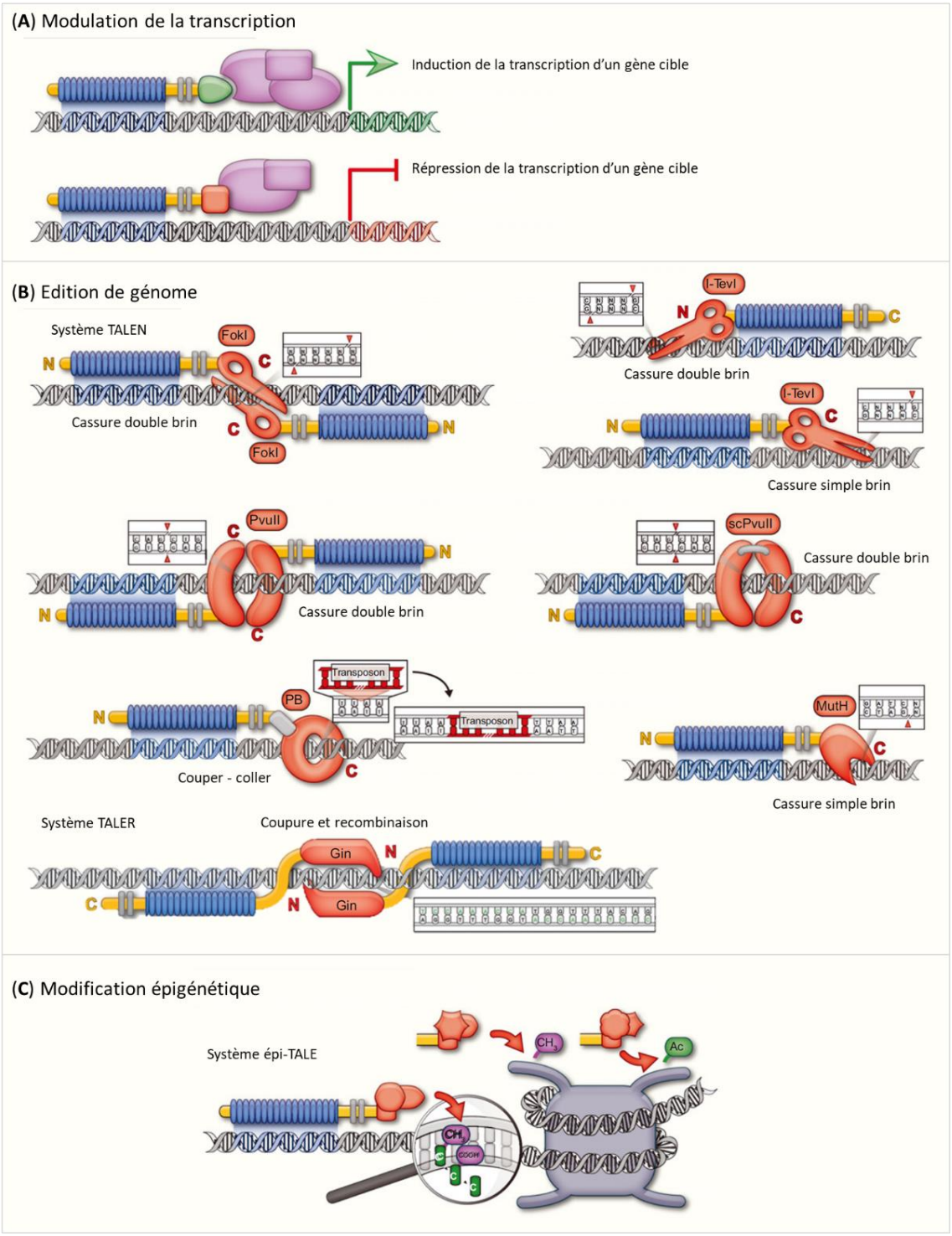


Figure 19. Outils biotechnologiques développés à l'aide d'effecteurs TAL. Adaptée de De Lange *et al.*, 2014. Des dTALE peuvent être associés à un domaine d'activation (vert) ou de répression (rouge) de la transcription pour induire ou réprimer des gènes cibles (**A**). Des dTALE peuvent être associés à divers domaines pour devenir des outils d'édition génomique (**B**). La spécificité du site ciblé est conférée par le dTALE, et l'action engendrée sur l'ADN dépend du domaine fusionné. Les endonucléases FokI, PvuII, scPvuII, I-TevI et MutH engendrent des cassures responsables de mutations dans l'ADN. Les protéines de fusions TALE-FokI (système TALEN) et TALE-PvuII fonctionnent en dimère et engendrent une cassure double brin. Deux protéines PvuII peuvent être fusionnées (scPvuII) afin qu'un seul dTALE soit utilisé. Les protéines de fusion TALE-I-TevI et TALE-MutH fonctionnent en monomère. TALE-MutH engendre une cassure simple brin. I-TevI fusionné au niveau C terminal ou N terminal d'un dTALE engendre une cassure simple brin ou double brin respectivement. Les endonucléases PvuII, I-TevI et MutH fonctionnent sur des séquences spécifiques d'ADN comme indiqué. Le système TALER comporte deux dTALE associés à la sérine recombinase Gin et permet d'intégrer, d'exciser ou d'inverser des segments d'ADN. Les dTALE peuvent être fusionnés avec la transposase DB pour insérer un transposon. Des dTALE peuvent être fusionnés à des domaines capables de modifier des marques épigénétiques sur l'ADN (système épi-TALE) (**C**).

(Christian *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2011a; Miller *et al.*, 2011; Voytas and Joung, 2009, Figure 10g). Cette endonucléase fonctionne en dimère, deux dTALEs sont donc nécessaires au fonctionnement des TALEN (Figure 19B). L'endonucléase FokI amenée par le système TALEN sur une séquence d'ADN spécifique va induire une cassure double brin. Suite à cette cassure, l'ADN est pris en charge par la machinerie de réparation de l'ADN qui peut faire des erreurs et induire des mutations au niveau de la cassure (Bogdanove and Voytas, 2011), ou bien insérer une séquence au niveau de la cassure à l'aide d'une matrice d'ADN donneur (Moore *et al.*, 2014). Les TALEN fonctionnent dans de nombreux organismes eucaryotes comme les plantes, les levures, les nématodes, le poisson zèbre, le rat ou encore l'humain (Cermak *et al.*, 2011; Geißler *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011a, 2011b; Mahfouz *et al.*, 2011; Sander *et al.*, 2012; Tesson *et al.*, 2011; Wood *et al.*, 2011). De façon intéressante, les TALEN ont été utilisés pour induire de la résistance à *Xoo* chez le riz en mutant les EBE ciblées par AvrXa7 et PthXo3 présentes devant le gène *OsSWEET14* (Li *et al.*, 2012). Par ailleurs, cet outil a aussi été utilisé en thérapie génique, et a permis de sauver deux enfants atteints de leucémie (Qasim *et al.*, 2017). Dans le même but que les TALEN, d'autres endonucléases que FokI peuvent être fusionnées aux effecteurs TAL, comme PvuII, I-TevI, MutH ou encore Cas9 (Beurdeley *et al.*, 2013; Bolukbasi *et al.*, 2015; Gabsalilow *et al.*, 2013; Yanik *et al.*, 2013, Figure 19B). Certaines de ces endonucléases présentent l'avantage de pouvoir fonctionner de façon monomérique, cependant elles peuvent présenter le désavantage d'avoir besoin d'un site spécifique pour fonctionner ce qui limite le nombre de cibles possibles. Malgré la grande spécificité des TALEN, il peut arriver que des mutations indésirables soient engendrées en dehors des sites ciblés (effet off-target). Aujourd'hui, la technologie TALEN est de moins en moins utilisée au profit de la technologie CRISPR-Cas9 qui est plus simple et plus rapide à mettre en place (Barrangou and Doudna, 2016; Jinek *et al.*, 2012; Perez-Quintero and Szurek, 2019, Figure 10i).

En dehors des nucléases, les effecteurs TAL peuvent aussi être associés à d'autres domaines comme des recombinases ou des transposases (De Lange *et al.*, 2014). La fusion d'un effecteur TAL et d'une recombinase permet d'induire des recombinaisons site spécifique permettant d'intégrer, d'exciser ou d'inverser des segments d'ADN au niveau d'un site donné (Grindley *et al.*, 2006), Figure 19B). Par exemple, le système TALER comporte deux dTALEs associés à la sérine recombinase Gin et permet d'éditer des séquences d'ADN aussi bien chez des mammifères que chez des bactéries (Mercer *et al.*, 2012). Malheureusement, ce système nécessite une séquence spécifique de 20 bp ce qui limite les sites cibles possibles. Les effecteurs TAL peuvent également être fusionnés avec la transposase DB ce qui permet d'insérer un transposon à un endroit spécifique du génome (Owens *et al.*, 2013, Figure 19B).

Enfin, les dTALE ont aussi été fusionnés à différents domaines permettant la modification de marques épigénétiques dans des génomes d'eucaryotes comme l'humain (Nitsch and Mussolino, 2018, Figure 19C). Par exemple, des domaines de méthylation ou de déméthylation ont pu être fusionnés à des effecteurs TAL afin de modifier les marques épigénétiques d'un site spécifique sur l'ADN, ce qui engendre alors une modification de l'expression des gènes soumis à ces marques épigénétiques (Bernstein *et al.*, 2015; Cho *et al.*, 2015; Kungulovski and Jeltsch, 2016; Maeder *et al.*, 2014; Mendenhall *et al.*, 2013). Enfin, les dTALE peuvent aussi être utilisés pour visualiser la chromatine (Miyanari *et al.*, 2013; Thanisch *et al.*, 2014), ou induire

des structures géométriques sur l'ADN tels de l'origami (Praetorius and Dietz, 2017, Figure 10k). Tous ces outils développés à partir des effecteurs TAL peuvent être utilisés pour modifier génétiquement ou épigénétiquement des gènes cibles. Ces modifications peuvent s'avérer particulièrement utiles pour le développement de résistances chez les plantes, la thérapie génique chez l'humain ou encore l'étude fonctionnelle de gènes en recherche.

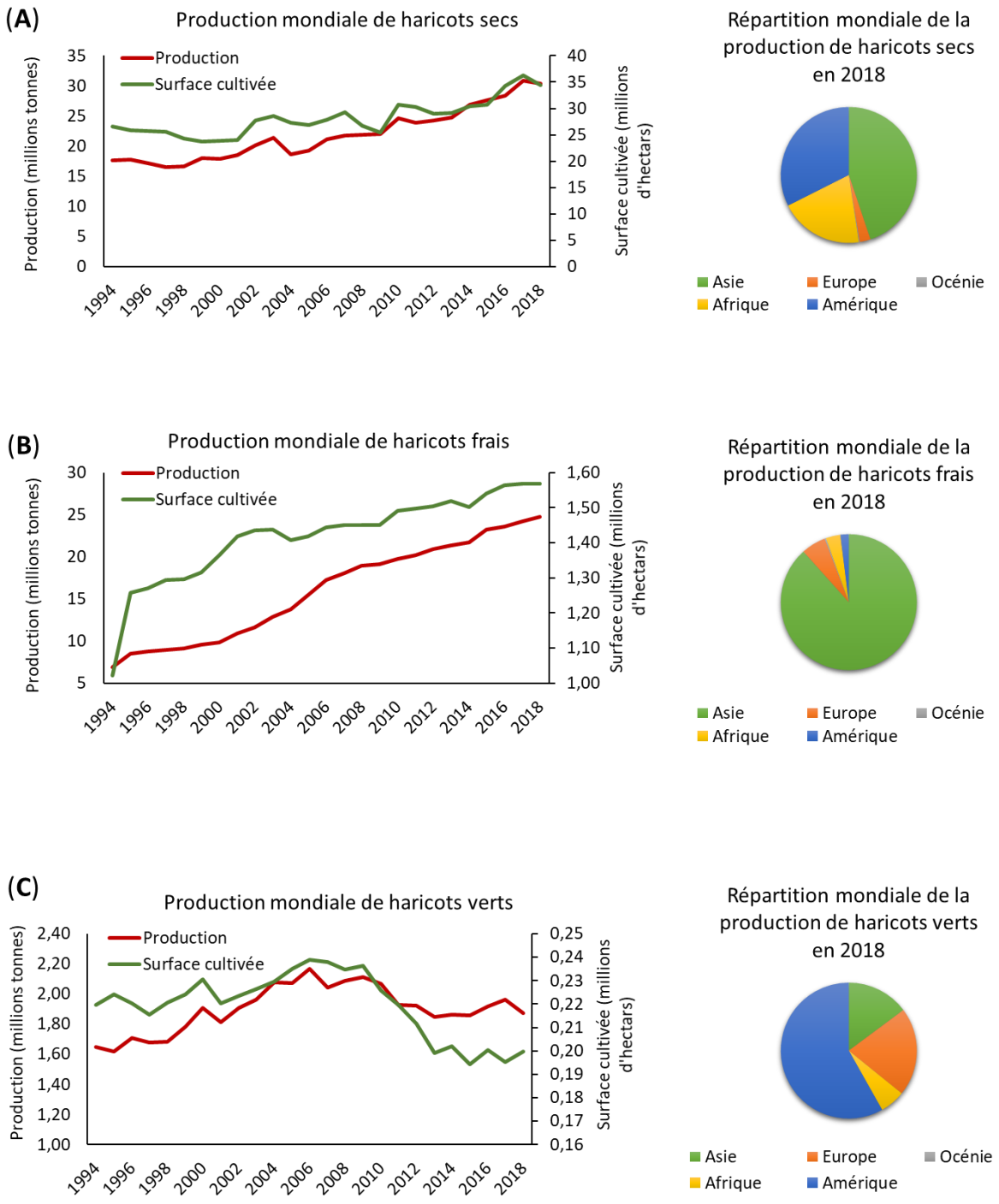


Figure 20. La production de haricots dans le monde. Evolution de la production mondiale et de la surface cultivée au cours du temps et répartition géographique de la production en 2018 de haricots secs (**A**), frais (**B**) et de haricots verts (**C**) (http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize).

3. Le pathosystème haricot-*Xanthomonas*

3.1. Le haricot

3.1.1. Intérêts économique, environnemental et nutritionnel du haricot

Le haricot commun (*Phaseolus vulgaris L.*) est une plante de la famille des *Fabaceae*, cultivée sur tous les continents en tant que culture vivrière ou commerciale. Cette plante peut être consommée pour ses graines (haricots secs ou frais) ou ses gousses immatures (haricots vert). Sous toutes ses formes, le haricot représentait en 2018 une production mondiale de 56,9 millions de tonnes sur 36,3 millions d'hectares (FAO, 2018). La grande majorité de cette production est représentée par les haricots secs (30,4 millions de tonnes) et frais (24,8 millions de tonnes), ce qui en fait le légume graine le plus consommé au monde (Broughton *et al.*, 2003, Figure 20). La production de haricots secs est répartie principalement en Asie (44,8 %) et en Amérique (32,4 %) avec comme principaux producteurs l'Inde (12 %) le Brésil (10 %) et la Birmanie (9 %). Le haricot frais est produit en grande partie par la Chine (47 %), tandis que le haricot vert est produit majoritairement aux Etats-Unis (50 %) et en France (18 %).

Dans le contexte actuel d'une population grandissante et d'une agriculture qui se doit d'être plus durable, le haricot présente plusieurs avantages. L'un des points clés d'une agriculture durable est la gestion efficace des intrants tels que l'azote et le phosphore, éléments essentiels au développement d'une plante. En ce sens, le haricot comme de très nombreuses *Fabaceae*, présente l'avantage d'être capable d'établir des symbioses fixatrices d'azote avec des bactéries du genre *Rhizobium* contenus dans des nodules. Et comme de nombreuses plantes, le haricot interagit avec des champignons du genre *Glomus* formant des endomycorhizes. Les nodules vont permettre de fixer l'azote atmosphérique pour le transformer en ammoniac utilisable comme source d'azote par les plantes (Masson-Boivin *et al.*, 2009; Mora *et al.*, 2014), tandis que les endomycorhizes permettent d'améliorer l'absorption du phosphore, de l'azote et d'autre micronutriments importants pour le haricot (He *et al.*, 2003; Scheublin and Van Der Heijden, 2006; Smith *et al.*, 2011; Tajini *et al.*, 2012). En échange, le haricot offre une protection et une source de carbone photosynthétique à ces microorganismes (Smith and Smith, 2011). De façon intéressante, ces deux types de symbioses ont un effet synergique permettant une nette amélioration de l'absorption d'azote et de phosphore ainsi qu'une activation des défenses (Abdel-Fattah *et al.*, 2011; Nanjareddy *et al.*, 2017; Tajini *et al.*, 2012). Ainsi, le haricot nécessite peu d'intrants, ce qui en fait une culture respectueuse de l'environnement et peu coûteuse (Rubiales and Mikic, 2015).

D'autre part, le haricot est une source importante de nutriments, vitamines et minéraux essentiels à la nutrition humaine (Broughton *et al.*, 2003; Foyer *et al.*, 2016; Petry *et al.*, 2015). Cette graine est particulièrement riche en protéines (plus de 20 % du poids de la graine, Rodino *et al.* 2001), dont la phaséoline qui en représente environ 40 % (Ma and Bliss, 1978). A ce titre, le haricot est la première source de protéines au Mexique et au Brésil (Broughton *et al.*, 2003). Il joue un rôle important dans les pays en développement et représente une alternative intéressante aux produits carnés. Cependant, le haricot est aussi composé de facteurs

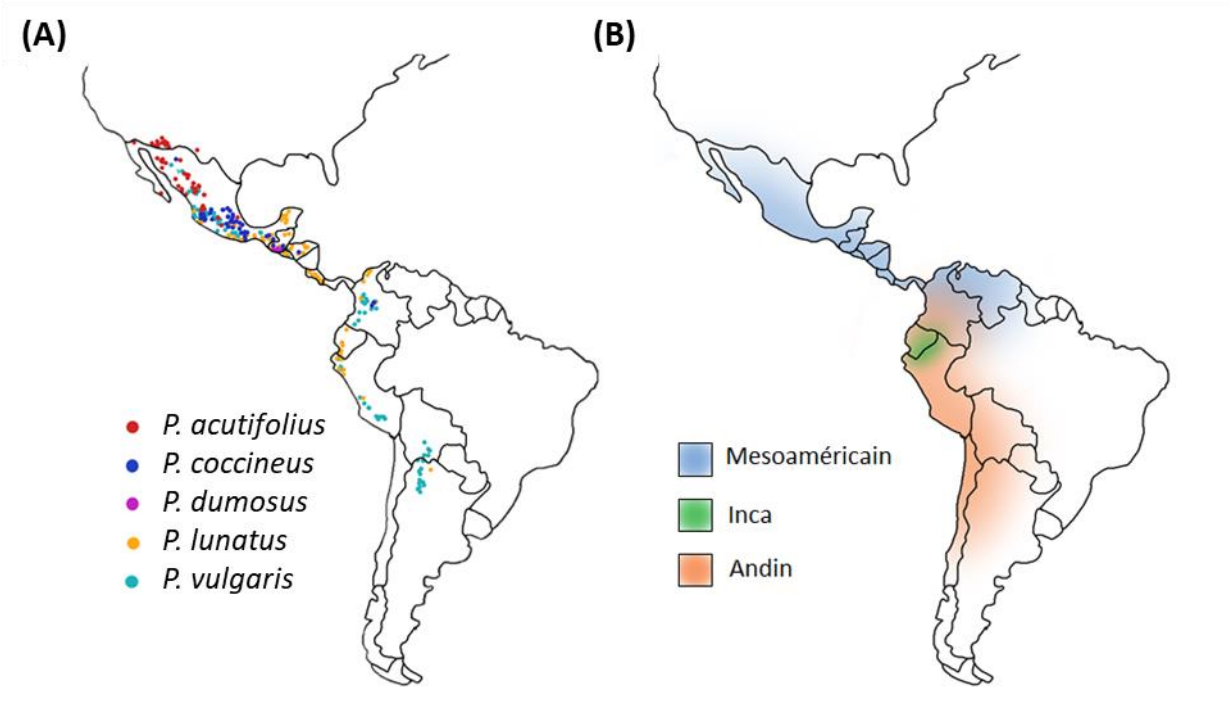


Figure 21. Distributions des différentes espèces de *Phaseolus* (A), et des différents pools géniques de *P. vulgaris* (B). Adaptée de Bitocchi *et al.*, 2017 (**A**) et inspiré de la description faite dans Mamidi *et al.*, 2013 (**B**).

antinutritionnels tels que des inhibiteurs d'alpha-amylase, des lectines, des substances phénoliques et des tanins (Broughton *et al.*, 2003), qui peuvent nuire à la biodisponibilité des nutriments. C'est pourquoi il existe des programmes de recherche et de sélection visant à augmenter la performance nutritionnelle et les rendements de ce légume afin de lutter contre la malnutrition (Mukankusi *et al.*, 2018; Pfeiffer and McClafferty, 2007; Welch *et al.*, 2000).

3.1.2. Histoire évolutive et sélection du haricot

Le genre *Phaseolus* (2n = 22) a émergé au Mexique il y a 4 à 6 millions d'années et compte aujourd'hui environ 70 espèces (Bitocchi *et al.*, 2012; Delgado-Salinas *et al.*, 2006) dont cinq sont cultivées (*P. vulgaris, P. lunatus, P. acutifolius, P. coccineus* et *P. dumosus*). Les espèces *P. coccineus, P. acutifolius* et *P. dumosus* sont aujourd'hui présentes uniquement en Amérique centrale, alors que *P. vulgaris* et *P. lunatus* sont présentes en amérique centrale et en amérique du sud (Bitocchi *et al.*, 2017, Figure 21A). La dispersion géographique du genre *Phaseolus* suggère une capacité d'adaptation à de nombreux environnements différents. De plus, *P. vulgaris* représente l'espèce avec la plus large adaptation écologique parmi les espèces de *Phaseolus* domestiquées (Bitocchi *et al.*, 2017). Les cinq espèces cultivées ont subi au moins sept événements de domestication indépendants, avec deux évènements indépendants concernant *P. vulgaris* ou *P. lunatus* (Bellucci *et al.*, 2014b). Le genre *Phaseolus* est donc un modèle d'étude très intéressant en terme d'évolution et d'adaptation (Bitocchi *et al.*, 2017).

Le haricot originaire du Mexique s'est dispersé en amérique centrale et en amérique du sud, mais la géographie particulière de cette zone a créé un goulot d'étranglement conduisant à un isolement reproductif partiel de cette espèce avant même la domestication (Bitocchi *et al.*, 2012; Rossi *et al.*, 2009). De ce fait, deux pools géniques majeurs sont apparus : le pool génique mésoaméricain et le pool génique andin ayant divergé il y a 165 000 à 111 000 ans (Gepts and Bliss, 1985; Koinange and Gepts, 1992; Mamidi *et al.*, 2013; Schmutz *et al.*, 2014, Figure 21B). Un troisième pool génique appelé Inca a également été décrit, il serait localisé en altitude le long de la Cordillère des Andes dans le nord du Pérou et en équateur (Debouck *et al.*, 1993). Ce pool génique présente une phaseoline différente des deux autres pools géniques, et aucun génotype domestiqué n'a pu être décrit dans ce pool Inca. Certains scientifiques ont proposé que ce pool génique pourrait être considéré comme une espèce soeur du haricot (Rendón-Anaya *et al.*, 2017), mais cette théorie reste encore controversée (Bitocchi *et al.*, 2017). Les pools géniques andin et Inca seraient issus d'introductions indépendantes de haricots d'origine mésoaméricaine en amérique du sud, de ce fait on retrouve une diversité génétique plus importante dans le pool génique mésoaméricain (Ariani *et al.*, 2018; Rossi *et al.*, 2009).

Suite au développement de ces différents pools géniques, des événements de domestication distincts ont eu lieu dans chacun des pools géniques majeurs du haricot (pools mésoaméricain et andin) (Bitocchi *et al.*, 2013; Gepts and Bliss, 1986; Rossi *et al.*, 2009). Le pool génique mésoaméricain aurait été domestiqué dans la vallée de Oaxaca située dans le sud du Mexique, alors que le pool génique andin aurait été domestiqué entre le nord de l'Argentine et le sud de la Bolivie (Rodriguez *et al.*, 2016). De nombreuses études ont montré que ces événements de domestication ont engendré une perte de diversité génétique dans les génotypes cultivés (Bellucci *et al.*, 2014a; Nanni *et al.*, 2011; Papa *et al.*, 2005; Rossi *et al.*, 2009). Cette perte de

diversité est d'autant plus importante dans les génotypes mésoaméricains, et s'accompagne d'une perte de diversité des gènes exprimés (Bellucci *et al.*, 2014a). Cependant, dans une petite partie du génome (2,8 %) la domestication du haricot augmente la diversité génétique en apportant notamment des mutations non-synonymes dans des loci associés aux stress abiotiques ou biotiques, à la floraison et à la morphologie (Bellucci *et al.*, 2014a; Rodriguez *et al.*, 2016). Il semblerait donc que la domestication du haricot engendre une perte globale de diversité génétique, mais permet une augmentation de la diversité fonctionnelle sur des loci ciblés par la sélection. Plus récemment, le haricot a été dispersé dans le monde entier et représente aujourd'hui l'un des *Phaseolus* le plus cultivé dans le monde. De façon intéressante, des haricots provenant des deux pools géniques majeurs ont été introduits en Europe, et ont pu s'hybrider de part l'absence de barrières géographiques. On retrouve alors des pourcentages importants d'hybrides en Europe (40 %) par rapport au reste du monde (moins de 10 %), ce continent pourrait alors être considéré comme un nouveau centre de diversité du haricot (Angioi *et al.*, 2009; Bitocchi *et al.*, 2017; Gioia *et al.*, 2013). Cette grande diversité génétique est aujourd'hui recensée au centre international de l'agriculture tropicale (CIAT : Centro Internacional de Agricultura Tropical) en Colombie qui compte 37 938 génotypes différents de haricot provenant de 112 pays.

De part son importance économique et son intérêt nutritionnel, beaucoup de travaux de recherche ont été menés pour découvrir les éléments génétiques responsables de différentes variations phénotypiques et créer des variétés d'intérêt (Beebe *et al.*, 2013). Les principaux traits que l'on cherche à améliorer chez le haricot sont : la résistance à la sécheresse, une forte teneur en minéraux dans les graines, une tolérance aux faibles concentrations en azote et phosphore dans le sol et la résistance aux maladies. En effet, le haricot est une plante sensible à la sécheresse, aux carences et à de nombreux agents pathogènes, comme *Pseudocercospora griseola* responsable de la tache angulaire, *Colletotrichum lindemuthianum* responsable de l'anthracnose, *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* et *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* responsables de la graisse commune du haricot, *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* responsable de pourriture racinaire ou encore le virus de la mosaïque du haricot. En ce sens, plusieurs programmes de recherche ont permis de développer des variétés de haricot résistantes à de multiples stress (biotiques et abiotiques) ou bien riches en fer et en zinc (Barili *et al.*, 2016; Buruchara *et al.*, 2011; Mukankusi *et al.*, 2018; Sadohara, 2020). Des études ont également évalué différents génotypes de haricot pour leur teneur en fibres, en vitamine B9, en minéraux ou encore leurs capacités technologiques (De M. Steckling *et al.*, 2017; Júnior *et al.*, 2015; Ramírez Rivera *et al.*, 2016). Tous ces traits d'intérêt peuvent être régis par un certain nombre de gènes, le plus souvent localisés dans des régions génomiques appelées QTL (Quantitative Trait Loci). Ainsi, plusieurs QTL ont été identifiés comme associés à une tolérance à la sécheresse, une teneur élevée en fer et zinc dans les graines ou une résistance à des agents pathogènes (Blair *et al.*, 2010; Keller *et al.*, 2015; Mukeshimana *et al.*, 2014; Nakedde, 2015; Nodari *et al.*, 1993b; Singh and Schwartz, 2010; Trapp *et al.*, 2015). Ces régions génomiques sont associées à des marqueurs connus, ce qui permet aux sélectionneurs de faire de la sélection assistée par marqueurs (MAS : Marker-Assisted Selection) en évaluant rapidement par séquençage la présence de QTL importants dans les différents génotypes qu'ils étudient. Pour parvenir à améliorer le haricot, les sélectionneurs peuvent alors s'appuyer sur ces données, et

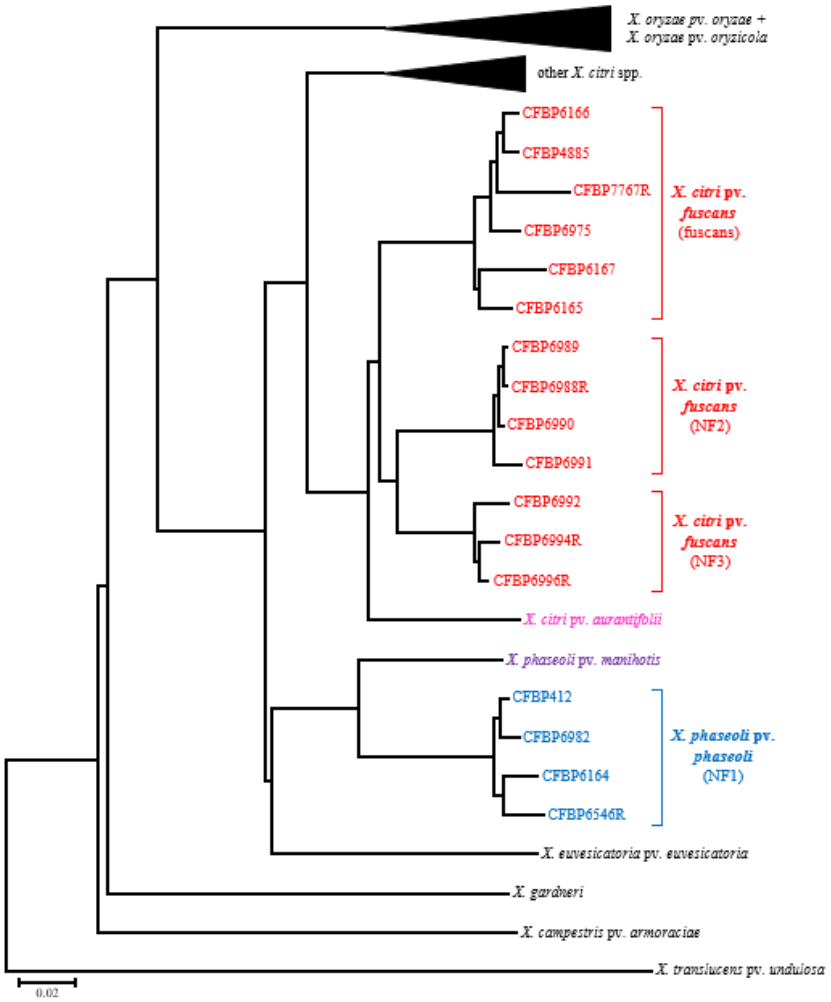


Figure 22. Arbre phylogénétique des *Xanthomonas* responsables de la graisse commune du haricot. Adapté de Ruh *et al.*, 2017. Arbre construit par la méthode CVtree sur le protéome des souches (Qi *et al.*, 2004). Les bactéries responsables de la graisse commune du haricot sont divisées en 4 lignées génétiques (NF1, NF2, NF3 et fuscans) dans deux pathovars *X. citri* pv. *fuscans* et *X. phaseoli* pv. *phaseoli*.

Tableau 5. Diversité des effecteurs TAL des *Xpp-Xcf*. Adapté de Ruh *et al.*, 2017.

Gene	Allele	RVD sequence alignment	Genetic lineages
Xfutal1	*TAL23A*	NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD NI HD NI HD HD HD HD HD NG NG	fuscans + NF2 + NF3
	TAL22B	NI NG NI NG NI NN NG NN HD NN NN NN HD NI HD NI HD HD HD HD HD NG	fuscans
	TAL22C	NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD NI HD NI HD HD HD HD HD NG NG	NF2
	TAL21D	NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD HD NI HD HD HD HD NG HD	NF1
	TAL19E	NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD NI HD HD HD HD NG	NF1
	TAL19I	NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD HD NI HD HD NG HD	NF1
Xfutal2	*TAL18H*	NI NG HD NG HD NI NG NI HD HY NN N* HD NG HY NN HD NG	fuscans + NF1
Xfutal3	*TAL20F*	N* HD HD NG NG NI NG NI NI NN NI HD HD HD HD HD NI HD NK NG	NF2
Xfutal4	*TAL18G*	N* HD HD NG NG NI NG NI NI NN NI HD HD HD NI HD NK NG	NF2

Les rectangles indiquent des insertions ou délétions, tandis que les substitutions sont surlignées en gris.

exploiter la grande diversité des *Phaseolus* en croisant le haricot avec *P. coccineus, P. acutifolius* ou encore *P. dumosus* afin d'obtenir des haricots résistants à une combinaison de stress et présentant une valeur agronomique intéressante (Beebe *et al.*, 2013).

3.2. La graisse commune du haricot

3.2.1. Incidence de la maladie

La graisse commune du haricot est l'une des phytobactérioses la plus dévastatrice sur culture de haricot avec des pertes de rendement allant généralement de 10 % à 45 % et pouvant atteindre 75 % (Belete and Bastas, 2017; Boersma *et al.*, 2015; Fininsa, 2003; Gillard *et al.*, 2009; Rodríguez De Luque and Creamer, 2014). Cette maladie est présente partout où le haricot est cultivé, et est favorisée par la chaleur humide, ce qui engendre des pertes très importantes dans les pays producteurs ayant un climat tropical ou subtropical (Belete and Bastas, 2017; Fourie, 2002; Karavina *et al.*, 2011). Cette maladie pose donc de fortes contraintes sur la production de haricot et l'économie locale en Afrique de l'Est et en Amérique du Sud (Belete and Bastas, 2017). Par ailleurs, les dégâts engendrés par cette maladie peuvent rendre les gousses ou les graines impropre à la commercialisation, ce qui accentue les pertes économiques engendrées.

3.2.2. Les *Xanthomonas* responsables de la graisse commune du haricot

La graisse commune du haricot a été décrite pour la première fois en 1893 (Zaumeyer and Thomas, 1957), et l'agent responsable de cette maladie a pu être identifié en 1897 sous le nom de *Bacillus phaseoli* (Smith, 1897), puis de *Xanthomonas phaseoli* (Dowson, 1943). Par la suite, l'EPPO en 1978 a distingué les bactéries dites fuscans des bactéries non fuscans (EPPO, 1978). En effet, certaines *Xanthomonas phaseoli* sont capables de produire un pigment brun diffusible appelé fuscans, sur un milieu riche en tyrosine (Figure 8). Ce pigment serait issu d'une perturbation du catabolisme de la tyrosine par pseudogénisation de *hmgA* codant une homogentisate oxygénase (Darrasse *et al.* 2013).

De nombreuses études ont été menées pour retracer l'histoire évolutive et la phylogénie des souches qui attaquent le haricot (Alavi *et al.*, 2008; Constantin *et al.*, 2016; Rademaker *et al.*, 2005; Vauterin *et al.*, 1995). Ces nombreux travaux témoignent de la difficulté de classer ces pathogènes très diversifiés capables d'attaquer le même hôte. Néanmoins, ils ont permis aujourd'hui de classer les souches qui attaquent le haricot en deux pathovars présents dans deux espèces : *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (*Xpp*) et *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* (*Xcf*) (Constantin *et al.*, 2016). Le pathovar *Xpp* contient des souches appartenant à la lignée non fuscans 1 (NF1), tandis que le pathovar *Xcf* est divisé en trois lignées génétiques appelées non fuscans 2, non fuscans 3 et fuscans (NF2, NF3 et fuscans) (Figure 22). Les NF1 sont donc éloignées phylogénétiquement des autres lignées génétiques, et seule la lignée génétique fuscans comporte des souches capables de produire le pigment brun fuscans. Les souches appartenant à la lignée génétique fuscans sont généralement plus agressives que les souches appartenant aux autres lignées génétiques (Birch *et al.*, 1997; Opio *et al.*, 1996; Toth *et al.*, 1998; Vidaver, 1993), bien que le pigment fuscans n'ait pas été associé à un gain d'agressivité (Gilbertson *et al.*, 1991; Tarigan and Rudolph, 1996).

Symptômes au champ de graisse commune du haricot.
Howard F. Schwartz, Colorado State University, Bugwood.org

Chloroses et nécroses sur feuille de haricot. Howard F. Schwartz, Colorado State University, Bugwood.org

Stries rougeâtres sur tige de haricot. René Crête (France)

Pustules sur gousse et taches sur graines de haricot.
Karavina et al., 2011.

Pustules sur gousses de haricot. Howard F. Schwartz, Colorado State University, Bugwood.org

Taches sur graines de haricot à droite et graines saines à gauche. Karavina et al., 2011.

Figure 23. Symptômes de graisse commune du haricot sur différents organes.

De manière intéressante, ces *Xanthomonas* possèdent quatre gènes TAL nommés *Xfutal1, Xfutal2, Xfutal3* et *Xfutal4* (aussi nommé *TAL23A*, *TAL18H*, *TAL20F* et *TAL18G* respectivement) (Darrasse *et al.*, 2013; Ruh *et al.*, 2017, Tableau 5). *Xfutal1* est représenté par une diversité de six allèles et est présent dans toutes les lignées génétiques qui attaquent le haricot, ce qui suggère que cet effecteur est important pour ces souches et pourraient participer à la convergence vers le haricot. *Xfutal2* est présent dans les lignées génétiques NF1 et fuscans qui sont phylogénétiquement éloignées. Cet effecteur pourrait donc aussi participer à la convergence évolutive de ces souches vers le haricot. Enfin, les effecteurs *Xfutal3* et *Xfutal4* sont présents uniquement dans la lignée NF2. Ils correspondraient alors à des effecteurs spécifiques de cette lignée.

3.2.3. Symptomatologie

La graisse commune du haricot peut engendrer des symptômes sur les feuilles, les tiges, les gousses ou encore les graines (Zaumeyer and Thomas, 1957, Figure 23). Les symptômes apparaissent sous la forme de petits spots graisseux sur la face inférieure des feuilles, puis se développent en de larges nécroses brunes et sèches entourées de chlorose (Goodwin and Sopher, 1994). Il est possible d'observer au microscope un suintement bactérien sur feuilles. Les nécroses peuvent fusionner et envahir toute la feuille, donnant l'illusion d'une plante brûlée. Les feuilles fortement infectées peuvent se déchiqueter et être emportées par le vent, ce qui facilite la dispersion de la bactérie. Des stries rougeâtres peuvent apparaître sur les tiges infectées, qui peuvent alors se fissurer et évoluer en chancres ou pourriture molle, ce qui les rend plus fragile face au vent (Belete and Bastas, 2017; Gilbertson and Maxwell, 1992). Sur gousses il est possible d'observer des spots graisseux circulaires, qui peuvent devenir brun-rougeâtre. Si l'infection se produit pendant le développement des gousses et des graines, les graines peuvent ne pas se développer, voire pourrir. Dans les gousses moins gravement atteintes, les graines infectées peuvent se développer normalement, être légèrement ridées ou bien présenter des taches jaune-brun (Karavina *et al.*, 2011; Mabagala, 1997). Les plantules issues de ces graines infectées peuvent être affectées dans leur germination et leur vigueur (Belete and Bastas, 2017). Certaines graines ne présentent aucun symptôme, mais portent cependant une population épiphyte non négligeable de pathogène, ce qui contribue à sa dispersion et complique le contrôle de la maladie (Akhavan *et al.*, 2013; Cafati and Saettler, 1980b; Darrasse *et al.*, 2007; Jacques *et al.*, 2005).

3.2.4. Le cycle infectieux

Les *Xanthomonas* responsables de la graisse commune du haricot sont capables de survivre dans les semences qui constituent la source principale d'inoculum primaire, au moins en climat tempéré. Ces bactéries sont aussi capables de survivre dans les débris végétaux durant plusieurs mois en fonction des conditions environnementales (Arnaud-Santana *et al.*, 1991; Torres *et al.*, 2009), et sur d'autres plantes hôtes comme *Phaseolus lunatus, Vigna aconitifolia, Vigna radiata, Lablab purpureus, Mucuna deeringiana, Phaseolus coccineus, Phaseolus acutifolius, Lupinus polyphyllus, Euphorbia heterophylla, Acanthospermum hisidum, Portulaca oleracea, Chenopodium album, Solanum nigrum, Echinochloa crus-galli, Beta vulgaris* et *Amaranthus retroflexus* (Akhavan *et al.*, 2013; EFSA, 2014; Opio *et al.*, 1995). Toutes ces sources

d'inoculum primaire permettent à la bactérie de survivre entre deux cultures et de se propager à travers le monde. Le temps entre l'infection initiale et la dispersion d'un inoculum secondaire est de 10 à 14 jours en conditions favorables (Karavina *et al.*, 2011).

Durant la phase d'installation, *Xpp* et *Xcf* peuvent se développer de façon épiphyte sans causer de symptômes pendant de longues périodes (Belete and Bastas, 2017). Durant cette phase, les bactéries épiphytes peuvent être retrouvées sous deux formes différentes : en biofilm ou bien en cellules solitaires. Ces deux populations sont identiques génétiquement, mais ne se comporte pas de la même manière sur la plante (Jacques *et al.*, 2005). En effet, le biofilm permet de protéger les cellules bactériennes contre de nombreux stress environnementaux, mais cette communauté de bactéries n'est pas capable d'atteindre une concentration sur plante suffisante pour déclencher l'infection. Les cellules bactériennes solitaires quant à elles, sont beaucoup plus sensibles aux stress environnementaux, mais elles sont capables d'entrer dans la plante pour s'y multiplier activement. De façon intéressante, le nombre de cellules solitaires est bien supérieur au nombre de cellules présentes dans les biofilms. Par ailleurs, il est reconnu que le phénomène de quorum sensing inhiberait la production de polysaccharides et donc la formation de biofilm (Tao *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2016). Ces résultats suggèrent donc que le quorum sensing permet aux bactéries de changer de style de vie pour devenir des cellules solitaires capables d'entrer dans la plante pour démarrer l'infection. Le déclenchement de l'infection va dépendre de la taille de la population bactérienne épiphyte, du nombre de portes d'entrée dans la plante et des conditions environnementales (Karavina *et al.*, 2011). Ainsi, les bactéries doivent atteindre une concentration d'environ 2,5 x 10^5 cfu/cm² de feuille pour pouvoir entrer dans les tissus foliaires (cfu : Colonie Formant Unité, Weller and Saettler, 1980).

Une fois la phase d'attaque lancée, les bactéries vont pénétrer dans la plante en passant par les stomates, les hydathodes et les blessures (Beattie and Lindow, 1995). Elles vont alors se multiplier de façon endophyte dans les espaces intercellulaires, et les symptômes pourront être visibles lorsque la population attendra 10^6 à 10^7 cfu/cm² de feuille (Weller and Saettler, 1980). Pour faire face aux défenses de la plante, *Xpp* et *Xcf* ont de nombreux facteurs de virulence tels que des récepteurs TonB-dépendant, cinq systèmes de sécrétions différents (de type I, II, III, IV et VI), de nombreux effecteurs dont des ET3 ou encore des enzymes capables de dégrader la paroi végétale (Alavi *et al.*, 2008; Darrasse *et al.*, 2013). De façon intéressante, toutes les souches capables d'attaquer le haricot ne possèdent pas le même arsenal de virulence. En effet, Alavi *et al.*, (2008) ont montré que seul la lignée NF1 possédait deux SST3. Le premier système de sécrétion Hrp2 est présent dans toutes les lignées génétiques, tandis que le second système SPI-1 n'est retrouvé que chez les NF1. Ce système SPI-1 a également été découvert chez d'autres bactéries et pourrait jouer un rôle dans la transmission de ce pathogène par les insectes (Triplett *et al.*, 2006). Sachant que *Xanthomonas* est aussi capable de se transmettre par les insectes, il est possible que ce système de sécrétion SPI-1 joue un rôle dans la propagation des NF1 par les insectes. Les répertoires d'ET3 sont également différents entre les *Xanthomonas* du haricot puisque l'on retrouve entre 14 et 29 ET3 dans chaque souche (Darrasse *et al.*, 2013; Hajri *et al.*, 2009). On retrouve aussi des effecteurs TAL différents dans les différentes lignées génétiques, comme par exemple *Xfutal2* qui est spécifique aux lignées fuscans et NF1, tandis que *Xfutal3* et *Xfutal4* sont spécifiques de la lignée NF2 (Ruh *et al.*, 2017).

Afin de se disséminer efficacement, ces bactéries sont capables de survivre dans les graines de haricot (Schuster and Coyne, 1975; Tebaldi *et al.*, 2010). Pour entrer dans les semences la bactérie peut emprunter trois voies différentes (Maude, 1996). Si la bactérie est présente dans le système vasculaire de la plante, elle peut contaminer de façon interne la graine en passant par le hile. Il a été montré que cette voie de transmission est dépendante d'un SST3 fonctionnel et d'adhésines (Darsonval *et al.*, 2009). La bactérie peut aussi se transmettre à travers le pistil, en étant apportée sur le stigmate pour descendre jusqu'à l'ovaire à travers le style. Enfin, la bactérie peut également contaminer la surface externe de la graine par contact entre le tégument de la graine et le fruit contaminé, ou durant la récolte lorsque la graine peut rencontrer des débris végétaux contaminés. Les *Xanthomonas* du haricot peuvent survivre pendant au moins 15 ans dans la graine et peuvent ensuite contaminer la plantule (Darrasse *et al.*, 2007; Hayward, 1993; Schuster and Coyne, 1974). Il a d'ailleurs été montré qu'un inoculum de seulement 1×10^3 cfu/graine suffit au développement de la maladie (Darrasse *et al.*, 2007). Ainsi, les échanges commerciaux de semences ont largement permis la dissémination de cette maladie partout dans le monde. A une échelle plus locale, l'homme peut également transmettre la maladie en utilisant des outils infectés par exemple. L'arrosage des cultures de haricot par aspersion aérienne ou la pluie favorisent fortement la maladie, car la bactérie peut alors passer de plante en plante à travers le phénomène de splashing (Akhavan *et al.*, 2013). L'eau va également créer un environnement favorable pour la multiplication des bactéries sur les feuilles, et va permettre aux bactéries de se déplacer plus facilement vers les ouvertures naturelles de la plante. Le vent lors de fortes tempêtes peut également emporter des débris végétaux contaminés pouvant infecter une culture voisine. Enfin, les arthropodes ont également pu être identifiés comme des vecteurs de la bactérie (Kaiser and Vakili, 1978).

3.2.5. Spécificité d'hôte, adaptation et co-évolution

Xpp et *Xcf* sont distantes phylogénétiquement, et pourtant elles sont toutes les deux capables d'attaquer le haricot. Plusieurs études ont été menées pour identifier les acteurs de la convergence pathologique de ces bactéries (Aritua *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2018; Hajri *et al.*, 2009; Ruh, 2017). Dans ces études, il est fait l'hypothèse que la spécificité d'hôte serait régie par un répertoire de gènes spécifiques aux *Xanthomonas* du haricot. L'étude la plus récente a permis d'identifier 115 gènes pouvant être en lien avec la spécificité d'hôte des *Xanthomonas* du haricot (Chen *et al.*, 2018). Parmi ces 115 gènes, on retrouve des fonctions comme les SST3 et SST4, des protéines sécrétées, des facteurs de transcription ou encore des récepteurs TonB-dépendant. Le plus souvent ces gènes correspondent à un élément d'un processus complexe, ce qui suggère que la modification de seulement quelques éléments dans certaines voies permet une adaptation au haricot. D'un autre côté, les fonctions représentées par ces 115 gènes sont en lien avec plusieurs étapes du cycle infectieux indiquant que l'adaptation ne se dessine pas à une seule étape du cycle. Des transferts horizontaux ont été mis en évidence entre les différentes lignées génétiques, notamment de la lignée fuscans vers la lignée NF1. Ces différents résultats ont amené les auteurs à émettre l'hypothèse que *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* serait le premier agent responsable de la graisse commune du haricot, puis que de nombreux transferts horizontaux de *Xcf* vers *Xpp* ont permis aux souches de la lignées NF1 de s'adapter au haricot.

Cette hypothèse corrèle avec le fait que la lignée NF1 est éloignée phylogénétiquement des autres lignées.

Peu d'études ont été menées sur la co-évolution entre les différents pools géniques du haricot et les différentes lignées génétiques de *Xpp* et *Xcf*. Cependant, généralement les souches Africaines sont plus agressives que les souches du reste du monde (Mkandawire *et al.*, 2004), et la lignée fuscans est souvent plus agressive que les autres lignées (Mkandawire *et al.*, 2004; Opio *et al.*, 1996). Aussi, les génotypes Mésoaméricains sont souvent plus résistants que les génotypes Andins (Singh and Miklas, 2015; Tugume *et al.*, 2018). Mutlu *et al.* (2008) ont testé 84 souches de *Xpp-Xcf* sur 13 génotypes de haricot, ce qui leur a permis de construire un dendrogramme basé sur l'agressivité des souches sur les différents génotypes de haricot. Sur ce dendrogramme les souches de *Xpp* et *Xcf* clusterisent ensemble quelle que soit leur origine géographique, ce qui semble indiquer que ces pathogènes ont été fréquemment disséminés, et qu'il n'y a pas de réelle co-évolution entre le haricot et ces souches. Cette conclusion est appuyée par l'étude de Mahuku *et al.* (2006) qui montrent que la diversité des souches n'est pas structuré géographiquement, ce qui est cohérent avec une dissémination par les semences au travers de nombreux échanges commerciaux entre les différents continents. Cependant, Mkandawire *et al.* (2004) ont montré que les souches non fuscans Africaines sont plus agressives et plus présentes sur les génotypes Andins que les souches fuscans, ce qui semble indiquer une spécialisation de ces souches pour les génotypes Andins. Malheureusement, les données disponibles pour ces études sont peu nombreuses, car on ne connaît pas toujours la zone géographique exacte et l'hôte d'isolement de chaque souche.

3.2.6. Les moyens de lutte

3.2.6.1. La lutte prophylactique

La graisse commune du haricot est une maladie difficile à contenir car *Xpp* et *Xcf* peuvent être présentes dans des graines et des plantes de façon asymptomatique (Belete and Bastas, 2017). C'est pourquoi ces bactéries sont réglementées par le dispositif du Passeport Phytosanitaire Européen (PPE) sur le territoire français depuis 2006 et sur le territoire européen depuis 2000. Les semences représentent une source majeure d'inoculum, par conséquent l'introduction et le mouvement de semences de haricot infectées par *Xpp* et *Xcf* est interdite en Europe. *Xcf* et *Xpp* étaient inscrites jusqu'en décembre 2019 sur l'annexe A2 de la directive européenne 2000/29 et donc considérées comme organismes de quarantaine de lutte obligatoire. Mais depuis décembre 2019, elles sont listées en tant qu'organisme réglementé non de quarantaine sur les graines de haricots (EPPO, 2019), cependant le seuil de tolérance sur les lots de semences reste de 0 %.

Pour se prémunir du risque d'infection en production de semences, celles-ci peuvent être produites dans des zones indemnes de maladie et suivant un cahier des charges excluant les contaminations en cours de culture (zones dites "hors graisse"), ou dans des zones qui ne sont pas favorables au développement de la maladie, ce qui est le cas des états très secs de l'ouest américain (Gilbertson and Maxwell, 1992).

Dans tous les cas, une étape de sélection sanitaire des lots de semences produites ou introduites en Europe doit avoir lieu. Le protocole de détection de *Xcf* ou *Xpp* comporte une étape de détection par isolement sur boite de Petri, suivie d'une identification moléculaire par test PCR spécifique ou d'un test de pouvoir pathogène (Audy *et al.*, 1994; Boureau *et al.*, 2013; Grimault *et al.*, 2014). Le lot est rejeté à un seuil d'une graine contaminée sur 5000, avant d'être commercialisé.

En dehors des semences, les débris végétaux constituent également un inoculum primaire important. C'est pourquoi il est conseillé d'enfouir profondément ou de brûler tous les résidus de culture, car les bactéries peuvent survivre dans ces débris (Gilbertson, 1990; Karavina *et al.*, 2011). Il est également important de désinfecter tous les outils utilisés, car ils peuvent être vecteurs de bactéries (Belete and Bastas, 2017). Akhavan *et al.*, (2013) ont montré que l'irrigation par aspersion favorise grandement la dispersion des bactéries, il est donc conseillé de ne pas arroser les plantes de cette manière. Des rotations ou associations de cultures permettent aussi de contrôler la graisse commune du haricot. Le haricot peut être associé au maïs ou au sorgho ce qui réduit l'incidence de la maladie en créant une barrière physique pour la dispersion du pathogène (Fininsa, 1996; Fininsa and Tefera, 2001; Nassary *et al.*, 2020). Dans le cas de rotation, il est conseillé d'attendre trois ans entre chaque culture de haricot (EFSA, 2014). A noter que l'oignon ne doit pas être utilisé en rotation avec le haricot, car il est un hôte asymptomatique de *Xpp* et *Xcf* (Gent *et al.*, 2005), tout comme certaines adventices qu'il est préférable d'éliminer des surfaces cultivées (EFSA, 2014). En Ethiopie, des mélanges de variétés de haricots sensibles et résistants ont permis de contrôler la graisse commune du haricot (Belete and Bastas, 2017).

3.2.6.2. La lutte chimique

Pour lutter contre la graisse commune du haricot, des produits phytosanitaires essentiellement à base de cuivre peuvent être utilisés pendant la phase végétative comme le sulfate de cuivre, l'hydroxyde de cuivre ou encore le potassium N-methyldicarbonate (Ararsa *et al.*, 2018; Belete and Bastas, 2017). Des antibiotiques tels que la streptomycine ou la kasugamicie sont également utilisés dans certains pays comme les Etats-Unis (EFSA, 2014; Karavina *et al.*, 2011). Viecelli and Moerschbächer (2013) ont aussi montré que l'application de manganèse pouvait réduire la maladie de plus de 47 %. Cependant, l'application répétée de ces produits peut conduire au développement d'une résistance au cuivre ou aux antibiotiques chez les bactéries, qui peut de plus être conjugative et ainsi se disperser dans l'environnement (Mirik *et al.*, 2007a; Ritchie and Dittapongpitch, 1991), en plus d'engendrer de la pollution environnementale.

3.2.6.3. La lutte biologique

D'autres produits non issus de la chimie de synthèse ont pu être identifiés pour lutter contre *Xpp* et *Xcf*. Il s'agit par exemple des huiles essentielles (Gakuubi *et al.*, 2016; Lo Cantore *et al.*, 2009; Sati and Joshi, 2011; Todorović *et al.*, 2016), mais leur utilisation reste encore confidentielle. Des études ont aussi montré que des méthodes de lutte biologique à l'aide de microorganismes antagonistes des *Xanthomonas* du haricot pouvaient fonctionner. Par exemple, les bactéries *Pseudomonas sp.*, *Rahnella aquatilis*, ou encore *Bacillus megaterium* permettraient de réduire le développement de la maladie (da Silva *et al.*, 2008; Giorgio *et al.*, 2016; Sallam, 2011). Cette résistance induite serait en partie dû à une augmentation de la

Tableau 6. Liste des 27 QRL identifiés chez le haricot contre la graisse commune.

N° QTL	Ch.	Marqueur associé	Croisement	Organes				Référence
				Feuille	Gousse	Graine	Champ	
Source de résistance provenant de *P. vulgaris*								
1	2	D0108	BJ	x				Nodari *et al.*, 1993b
2	3	PvSNP85p745405	SO	x				Xie *et al.*, 2017
3	5	D1081	BJ	x				Nodari *et al.*, 1993b
4	7	D1390	BJ	x				Nodari *et al.*, 1993b
		AD4.1150	BH	x				Jung *et al.*, 1996
		AD4.1150	BV	x				Jung *et al.*, 1999
		AA19.600-L6.800	DX	x			x	Miklas *et al.*, 2000a
5	9	D0157	BJ	x				Nodari *et al.*, 1993b
6	10	AP6.820	DX	x	x		x	Miklas *et al.*, 1996
		BC409.1250	BH	x	x			Jung *et al.*, 1996
		BC409.1250	BV	x				Jung *et al.*, 1999
		BC409.1250	BA, BH, PB	x	x			Jung *et al.*, 1999
		W10.550	BA	x	x			Ariyarathne *et al.*, 1999
		SAP6.820	MGO	x			x	Miklas *et al.*, 2003
		Xap1	PR	x				Zapata *et al.*, 2010
7	11	BNG25A	XC	x				Yu *et al.*, 1998
8	11	BNG154	XC	x				Yu *et al.*, 1998
Source de résistance provenant de *P. acutifolius*								
9	1	R20.1250	BA	x	x			Ariyarathne *et al.*, 1999
10	2	U8.1100	BH	x				Jung *et al.*, 1996
11	2	AM02.1500	PX	x				Jung *et al.*, 1997
12	2	A10.1750	BA	x	x			Ariyarathne *et al.*, 1999
13	3	BNG21	S95	x			x	Tar'an *et al.*, 2001
14	3	C1.1550	BH	x				Jung *et al.*, 1996
15	4	BNG71	S95	x			x	Tar'an *et al.*, 2001
16	5	PHVPVPK-1	S95	x			x	Tar'an *et al.*, 2001
17	6	BC420.900	PX	x				Jung *et al.*, 1997
		BC420.900	HW	x				Yu *et al.*, 2000a
18	7	AL7.1050	PX	x	x	x		Jung *et al.*, 1997
19	7	G17.400	BA	x	x			Ariyarathne *et al.*, 1999
20	7	Pv-tttc001	H95	x				Yu *et al.*, 2004
21	8	SU91	DS	x				Pedraza García *et al.*, 1997
		R7313	IPE	x			x	Bai *et al.*, 1997
22	8	BC432.1000	PX			x		Jung *et al.*, 1997
23	9	Y4.1600	BA	x				Ariyarathne *et al.*, 1999
24	11	BC446.1200	BH	x				Jung *et al.*, 1996
25	11	SNP47467	VO	x	x			Viteri *et al.*, 2014a
Source de résistance provenant de *P. coccineus*								
26	7	BNG40	XC	x				Yu *et al.*, 1998
27	8	BNG139	XC	x				Yu *et al.*, 1998

Ch. : Chromosome. BA : Belneb RR-1/A55, BH : BAC 6/HT 7719, BJ : BAT93/JaloEEP558, BV : BAC 6/Venezuella 44, DS : DOR 476/SEL 1309, DX : Dorado/XAN176, H95 : HR67/OAC95-4, HW : HR67/W1744D, IPE : ICA Pijao/PI 440795 (*P. acutifolius*)//ExRico23, MGO : Montana N°5/GN#1Sel27 et Montana N°5/Othello, PB : PC50/BAC6, PR : PR0313-58/Rosada Nativa, PX : PC50/XAN159, S95 : Seaforth/OAC 95-4, SO : Sanilac/OAC 09-3, VO : VAX1/Othello et VAX3/Othello et XC : XR-235-1-1/Calima.

production de composés phénoliques et de l'activité peroxydase dans les plantes (Sallam, 2011). Malgré ces résultats prometteurs, ces méthodes restent à mettre en place en champs.

3.2.6.4. La lutte génétique

Enfin, des génotypes résistants peuvent être utilisées pour lutter contre la graisse commune du haricot. Cette méthode de lutte semble être la meilleure stratégie économique pour lutter efficacement contre cette maladie tout en respectant l'environnement (Belete and Bastas, 2017; Dangl *et al.*, 2013; Popovic *et al.*, 2012). Bien que des variations de résistances aient été observées chez plusieurs haricots contre *Xpp-Xcf*, aucune résistance suivant le modèle gène pour gène n'a pu être identifiée (Opio *et al.*, 1996; Singh and Miklas, 2015; Tugume *et al.*, 2018; Viteri and Singh, 2014). A ce jour, seules des résistances quantitatives et polygéniques liées à des QRL (Quantitative Resistance Loci) ont été découvertes (Singh and Miklas, 2015; Singh and Schwartz, 2010; Yu *et al.*, 2012, Tableau 6). Ces résistances sont retrouvées dans trois pools géniques de *Phaseolus*. Le premier pool génique comporte des *P. vulgaris* cultivés et sauvages, le deuxième pool génique correspond à *P. coccineus, P. costaricenis* et *P. polyanthus*, et le troisième pool génique contient *P. acutifolius* et *P. parvifolius* (Belete and Bastas, 2017; Singh and Schwartz, 2010). Le plus haut niveau de résistance est retrouvé chez *P. acutifolius*, suivis de *P. coccineus* puis de *P. vulgaris* (Miklas *et al.*, 2006; Singh and Miklas, 2015; Singh and Muñoz, 1999).

De nombreux croisements ont été fait entre trois espèces (*P. vulgaris*, *P. coccineus* et *P. acutifolius*) et ont permis de générer des variétés plus ou moins résistantes à la graisse commune du haricot. Au sein du pool génique *P. vulgaris* plusieurs génotypes comme Montana No.5 ou Balned RR-1 ont pu être utilisés comme sources de résistance (Miklas *et al.*, 2003; Zapata *et al.*, 2010). Mais ces résistances sont relativement faibles par rapport aux résistances que l'on peut retrouver dans les autres pools géniques. Des croisements entre *P. vulgaris* et *P. coccineus* ont permis d'obtenir des lignées plus résistantes telles que les lignées ICB 3, TARS VCI-4B ou encore XR235-1-1 (Miklas *et al.*, 1994, 1999; Yu *et al.*, 1998). Malheureusement, on connaît encore assez peu de chose sur la génétique responsable de ces résistances (Singh and Miklas, 2015; Yu *et al.*, 2012). Enfin, les croisements entre *P. vulgaris* et des lignées de *P. acutifolius* ont permis de générer les résistances les plus fortes connues à ce jour contre la graisse commune du haricot. Par exemple, la lignée XAN159 issue d'un croisement entre *P. vulgaris* et *P. acutifolius* (PI 319443) a été développée au CIAT et est résistante à la maladie (Thomas and Waines, 1984). Cette lignée a pu être utilisée pour créer la variété HR45 qui présente une résistance forte à la graisse commune du haricot (Park and Dhanvantari, 1994). La lignée de *P. acutifolius* PI 440795 à permis de générer les lignées OAC-88-1 et OAC-Rex (Bai *et al.*, 1997; Tar'an *et al.*, 2001), tandis que la lignée G40001 à permis de générer les nombreuses lignées VAX (Mejía-Jiménez *et al.*, 1994; Singh and Muñoz, 1999).

Pour pouvoir localiser les QRL et les introgresser dans différents génotypes, il a fallu construire des cartes génétiques à l'aide de marqueurs situés sur le génome du haricot. La première carte génétique du haricot a été construite en 1992 avec des marqueurs RFLP en étudiant un croisement entre une lignée mésoaméricaine (XR-235-1-1) et andine (Calima) (Vallejos *et al.*, 1992). Par la suite deux autres cartes ont été construites (Adam-Blondon *et al.*, 1994; Nodari *et al.*, 1993a), dont celle basée sur un croisement entre la lignée Mésoaméricaine BAT93 et la

lignée Andine JaloEEP558 (Nodari *et al.*, 1993a). La population issue du croisement (BJ) a été choisie par la communauté scientifique pour construire un carte génétique commune qui rassemble différents types de marqueurs, car cette population présentait un niveau élevé de polymorphisme pour les marques génétiques et une bonne ségrégation pour les interactions plantes-pathogènes (Freyre *et al.*, 1998; Kelly *et al.*, 2003; Miklas *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 2012). Ainsi, de nombreux marqueurs ont pu être développés sur cette population comme les marqueurs SNP (single nucleotide polymorphisme), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism**)**, SSR (Simple sequence repeat) ou encore SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) (Blair *et al.*, 2003; Freyre *et al.*, 1998; Gaitán-Solís *et al.*, 2008; Gepts, 1999; Hanai *et al.*, 2007; Hyten *et al.*, 2010; Kelly *et al.*, 2003; Miklas *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 1999, 2000b). Plusieurs travaux ont ensuite permis de faire le lien entre la carte génétique et la carte physique en identifiant les chromosomes et en séquençant le génome du haricot G19833 (Córdoba *et al.*, 2010; Fonsêca *et al.*, 2010; Pedrosa-Harand *et al.*, 2008; Pedrosa *et al.*, 2003; Schmutz *et al.*, 2014).

A ce jour, 27 QRL ont pu être identifiés sur les 11 chromosomes du haricot (Tableau 6) et la grande majorité de ces QRL provient de génotypes mésoaméricains (Miklas *et al.*, 2006; Viteri *et al.*, 2014b; Yu *et al.*, 2012). Parmi ces QRL, SAP6 est un QRL majeur originaire de *P. vulgaris* que l'on retrouve notamment dans Montana No.5 et Belneb RR-1 (Miklas *et al.*, 2003). Ce QRL comporterait 25 gènes, dont 10 sont associés à des mécanismes de défenses (Zhu *et al.*, 2016). Dans les lignées issues de croisements entre *P. vulgaris* et *P. acutifolius*, deux QRL majeurs ont été identifiés : BC420 et SU91 présents dans les lignées XAN159, HR45 et HR67 (Jung *et al.*, 1997; Pedraza García *et al.*, 1997; Yu *et al.*, 2000a). BC420 expliquerait 70 % de la résistance observé chez HR67, ce qui représente le plus fort pourcentage explicatif connu pour un QRL de la graisse commune du haricot (Yu *et al.*, 2004). Une étude GWAS (genome wide association study) a confirmé ces deux QRL (Shi *et al.*, 2011b), tandis que plusieurs travaux ont été menés pour identifier les gènes présents dans ces QRL (Perry *et al.*, 2013; Shi *et al.*, 2011a). Ces travaux ont mis en évidence des gènes candidats dont des gènes R qu'il reste encore à valider fonctionnellement. Il est possible que ces gènes ne soient pas régulés de la même manière dans différents génotypes, et/ou qu'ils interagissent avec d'autres gènes ailleurs dans le génome ce qui expliquerait les différences de résistance observées pour un même QRL dans différents fonds génétiques (Tugume *et al.*, 2018).

De nombreux efforts ont permis d'introgresser de la résistance à *Xpp* et *Xcf* dans le haricot, mais la résistance observée reste variable. En effet, ces résistances étant codées par des QRL ont une héritabilité et un niveau d'expression variable (Singh and Schwartz, 2010). Les QRL peuvent s'exprimer plus ou moins fortement en fonction de l'environnement, du fond génétique d'introgression ou encore de la pression épidémique (Miklas *et al.*, 2006). De plus, des systèmes génétiques différents contrôlent la résistance dans les gousses et dans les feuilles, et les résistances ne sont pas forcément efficaces contre les diverses souches responsables de cette maladie (Aggour *et al.*, 1989; Duncan *et al.*, 2011; Viteri *et al.*, 2014b). C'est pour cela que des génotypes de haricot ont été construits avec la stratégie de pyramidage, consistant à introgresser un maximum d'éléments génétiques redondant pour un même caractère dans une même plante

afin d'assurer la résistance à plusieurs agents pathogènes, dans différentes conditions ou dans différents tissus (Miklas *et al.*, 2000b; Mutlu *et al.*, 2005; Viteri and Singh, 2014). Cependant, la présence de plusieurs QRL dans un même génotype ne conduit pas forcément à une addition d'effets bénéfiques, car il peut exister des épistasies entre les QRL, comme c'est le cas entre SU91 et BC420 (O'Boyle *et al.*, 2007; Vandemark *et al.*, 2008). En effet lorsque SU91 est sous la forme récessive (*su91*//*su91*), il empêche l'expression de BC420, ce qui réduit considérablement la résistance. Par ailleurs, ces QRL ne sont pas toujours compatibles avec les traits agronomiques recherchés. Par exemple, le QRL BC420 est associé au gène *V* responsable de la couleur violette des fleurs et de la couleur sombre des graines, ce qui n'est pas un trait agronomique favorable (Liu *et al.*, 2008; Yu *et al.*, 2012).

Afin de lutter efficacement contre la graisse commune du haricot, les différentes méthodes présentées précédemment sont souvent combinées (Belete and Bastas, 2017). Cependant, cette maladie n'est pas la seule menace sur la culture de haricot. D'autres stress biotiques menacent le haricot tels que la graisse à halo causée par la bactérie *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola,* l'anthracnose causée par le champignon *Colletotrichum lindemuthianum* ou encore le virus de la mosaïque du haricot (Singh and Schwartz, 2010). A cela s'ajoute des stress abiotiques comme la sécheresse ou l'appauvrissement des sols qui s'accentuent avec le réchauffement climatique en cours (Rodríguez De Luque and Creamer, 2014). Tous ces stress peuvent se cumuler dans une même parcelle, les sélectionneurs doivent donc combiner au mieux les différentes résistances recherchées (Miklas *et al.*, 2000a, 2006; Singh and Schwartz, 2010).

4. Objectif de la thèse

Les bactéries du genre *Xanthomonas* représentent une menace importante sur la production alimentaire mondiale, notamment *Xpp* et *Xcf* responsables de la graisse commune du haricot. La lutte génétique représente l'un des meilleurs moyens pour lutter contre *Xanthomonas*. Cependant, dans le cas de l'interaction haricot-*Xanthomonas* assez peu de méthodes de lutte génétiques efficaces existent. L'utilisation des effecteurs TAL pour dévelloper des résistances offre de nouvelles perspectives quand au développement de résistances génétiques efficaces. Lors de la thèse précédente (Ruh, 2017), quatre effecteurs TAL ont été identifiés dans les souches *Xpp*-*Xcf* et des mutants de deletion de *Xfutal1* et *Xfutal2* ont été produits. Egalement, les génomes complets de haricot résistant (BAT93) et sensible (JaloEEP558) ont été séquencés et des données de RNA-Seq ont été générées après inoculation de souches portant différents effecteurs TAL.

Dans ce contexte, ma question de recherche dans le cadre de cette thèse a été la suivante :

> **Quels sont les gènes impliqués dans la résistance ou la sensibilité du haricot à *Xanthomonas* et quel est le rôle des effecteurs TAL dans cette interaction ?**

Pour répondre à cette question, une étude de RNA-Seq a été mené afin de mettre en évidence des gènes liés à des voies métaboliques qui seraient importantes pour la sensibilité ou la résistance à la graisse commune du haricot. Pour comprendre le rôle des effecteurs TAL dans cette interaction, les potentielles cibles de XfuTAL1 et XfuTAL2 ont été recherchées et testées.

Les résultats de cette thèse sont présentés sous la forme d'articles dans quatre chapitres.

Le premier chapitre correspond à une analyse de la réponse transcriptomique du haricot à *Xanthomonas* en contexte résistant ou sensible. L'article de ce chapitre a été publié dans le journal BMC Genomics.

Le second chapitre présente la mise au point de la méthode de phénotypage de l'interaction haricot-*Xanthomonas.* Cette article sera soumis avant 2021 dans le journal Plant Pathology.

Le troisième chapitre correspond à la découverte de la cible *PvAIL1* de XfuTAL1. Cette article sera soumis courant 2021.

Enfin, le quatrième chapitre présente l'étude de structures atypiques de XfuTAL2 et de ces cibles potentielles. Pour publier cette article courant 2021, il sera nescessaire de répéter les résultats présentés.

Enfin, l'analyse bibliographique résumant les QRL présents chez le haricot contre *Xanthomonas* (Tableau 6) sera intégrée à une review (Pathogen Profil) publiée dans le journal Molecular Plant Pathology (Chen *et al.* in prep). Cet article n'est pas présenté dans ce manuscrit.

Chapitre 1 :
Impact de *Xanthomonas* sur le transcriptome du haricot en contexte résistant ou sensible

1. Préambule

Le premier objectif de cette thèse était de comprendre l'impact de *Xanthomonas* sur le transcriptome du haricot. Une étude RNA-Seq a permis de publier un article dont je suis le premier auteur dans le journal BMC Genomics.

Dans ces travaux, j'ai mené l'ensemble des analyses transcriptomiques, mené les expériences de RT-qPCR, produit les figures et rédigé la première version de l'article. Lors de mon stage de master 1, j'ai aidé Mylène Ruh à mener les tests de pouvoir pathogène et produire les ARN nécessaires pour ces analyses. Anne Préveaux et Daniel Sochard ont aussi apporté leur aide et leur expertise durant ces expérimentations. Les données d'imagerie de fluorescence ont été traitées par Céline Rousseau tandis que les RT-qPCR ont été menées sur le plateau ANAN de l'IRHS avec l'aide de Muriel Bahut. Rémy-Félix Serre de la plateforme GeT-PlaGe à Toulouse s'est chargé du séquençage des ARN. Les données brutes du séquençage ont été traitées par Sébastien Carrère au LIPM de Toulouse. Sandra Pelletier et Martial Briand m'ont aidé à analyser les données. Marie-Agnès Jacques et Nicolas Chen ont conçu cette étude et ont participé à la rédaction de l'article publié.

Foucher *et al. BMC Genomics* (2020) 21:566
https://doi.org/10.1186/s12864-020-06972-6

BMC Genomics

RESEARCH ARTICLE Open Access

Common bean resistance to *Xanthomonas* is associated with upregulation of the salicylic acid pathway and downregulation of photosynthesis

Justine Foucher[1], Mylène Ruh[1], Anne Préveaux[1], Sébastien Carrère[2], Sandra Pelletier[1], Martial Briand[1], Rémy-Félix Serre[3], Marie-Agnès Jacques[1] and Nicolas W. G. Chen [1*]

Abstract

Background: Common bacterial blight (CBB) caused by *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* is one of the major threats to common bean crops (*Phaseolus vulgaris* L.). Resistance to CBB is particularly complex as 26 quantitative resistance loci to CBB have been described so far. To date, transcriptomic studies after CBB infection have been very scarce and the molecular mechanisms underlying susceptibility or resistance are largely unknown.

Results: We sequenced and annotated the genomes of two common bean genotypes being either resistant (BAT93) or susceptible (JaloEEP558) to CBB. Reciprocal BLASTp analysis led to a list of 20,787 homologs between these genotypes and the common bean reference genome (G19833), which provides a solid dataset for further comparative analyses. RNA-Seq after inoculation with *X. phaseoli* pv. *phaseoli* showed that the susceptible genotype initiated a more intense and diverse biological response than the resistant genotype. Resistance was linked to upregulation of the salicylic acid pathway and downregulation of photosynthesis and sugar metabolism, while susceptibility was linked to downregulation of resistance genes and upregulation of the ethylene pathway and of genes involved in cell wall modification.

Conclusions: This study helps better understanding the mechanisms occurring during the early colonization phase of common bean by *Xanthomonas* and unveils new actors potentially important for resistance and susceptibility to CBB. We discuss the potential link between the pathways induced during bean colonization and genes induced by transcription activator-like effectors (TALEs), as illustrated in other *Xanthomonas* pathovars.

Keywords: Common bean, *Xanthomonas*, Common bacterial blight, RNA-Seq, Resistance

* Correspondence: nicolas.chen@agrocampus-ouest.fr
[1]IRHS, INRAE, AGROCAMPUS OUEST, Université d'Angers, SFR4207 QUASAV, 42, rue Georges Morel, F-49071 Beaucouzé, France
Full list of author information is available at the end of the article

© The Author(s). 2020, corrected publication 2020. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

Background

Plant immunity is governed by a two-tier system capable of monitoring the presence of pathogens [1, 2]. The first layer of the plant immune system consists of the recognition of evolutionarily conserved pathogen- or microbe-associated molecular patterns (PAMPs or MAMPs) by pattern-recognition receptors (PRRs) [3, 4]. PRRs belong typically to the receptor-like kinase (RLK) family, which encompasses membrane proteins with an extracellular domain composed of either leucine-rich repeats or lysin motifs [5]. Activation of PRRs leads to a complex response called PAMP-triggered immunity (PTI) involving intracellular signaling, transcriptional reprogramming, and biosynthesis of compounds that limit microbial colonization [6]. Pathogens employ an array of proteins called effectors, a large proportion of which are able to subvert PTI [7]. For example, bacterial pathogens use a type III secretion system to inject dozens of type III effectors into host cells [8–10]. The second layer of plant immunity or effector-triggered immunity (ETI) consists of the direct or indirect recognition of effectors by intracellular disease resistance (*R*) proteins [11]. Most of these proteins belong to a large family of nucleotide-binding leucine-rich repeat (NLR) receptors. After pathogen detection, plants usually trigger a burst of Ca^{2+} followed by an extracellular production of reactive oxygen species and activation of mitogen-activated protein kinases (MAPKs). Different molecular pathways can be activated, involving major hormones such as salicylic acid (SA), jasmonic acid (JA) and ethylene, which are key for regulating the immune response to pathogen [12–14]. These pathways lead to defense responses characterized by, but not limited to the production of pathogenesis-related (PR) proteins and cell wall reinforcement [15].

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is the main grain legume used for direct human consumption. This crop is of particular interest for human nutrition, as it is one of the main sources of protein in many countries from America and Africa, as well as a source of vitamins, fibers and minerals [16, 17]. Common bean originated from Mesoamerica, from where populations migrated to the Andean region 146,000 to 184,000 years ago, resulting in the creation of two major gene pools (Mesoamerican and Andean) [18]. Wild plants from both gene pools differ in morphology, Mesoamerican having thinner leaves and producing pods and seeds that are smaller, though more numerous than their Andean counterpart [19].

Common bacterial blight of bean (CBB) is one of the main threats to bean cultivation with yield losses of more than 40% under favourable conditions [20, 21] and up to 75% in the most severe cases [22, 23]. CBB is characterized by water-soaking spots on leaves, stems and pods, further evolving into necrotic lesions sometimes surrounded by a chlorotic halo in leaves. This disease is caused by *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* [24–27]. These bacteria are mainly transmitted by seeds, and occur in all regions where common bean is cultivated [22]. CBB is mainly controlled by prophylactic methods such as the use of pathogen-free seeds, two-year rotations with non-leguminous crops and burning of plant residues [28]. In quarantine areas, seed lots are routinely tested using a method involving isolation of bacterial strains and identification using specific PCR or pathogenicity tests [29, 30]. However, *X. citri* pv. *fuscans* and *X. phaseoli* pv. *phaseoli* were recently removed from the quarantine list of the European Union (EU delegated regulation 2019/2072), which was previously the main quarantine zone for CBB agents worldwide. In this context, it is important to develop and use resistant genotypes, which is the most economic and ecologically safe management strategy against CBB [31, 32].

Although variations of CBB resistance levels have been observed in several common bean accessions, no major *R* gene to CBB has been described so far [33–35]. On the other hand, several *R* gene to CBB have been described in *P. acutifolius* and *P. coccineus* [36, 37]. Introgression of CBB resistance from *P. acutifolius* in XAN lines led to two major quantitative resistance loci (QRLs) associated with markers SU91 and BC420 [38, 39], which explain a significant part of the phenotypic variation [40–42]. Most resistant cultivars bred for CBB resistance possess the SAP6 marker deriving from the Great Northern landrace cultivars, such as 'Montana No.5' and 'GN #1 sel 27' [43, 44]. So far, 26 QRLs to CBB have been mapped using nine different bi-parental populations. These QRLs are dispersed throughout the common bean genome and poorly co-localize with each other when comparing the different populations tested. Moreover, most CBB resistances vary according to plant maturity, plant organs (leaf, pod or seed), pathogenic strains and environment [34, 45, 46], which reflects the high complexity of CBB resistance.

Analyzing the transcriptomic response of common bean to CBB is a way to enhance our knowledge on the molecular mechanisms underlying CBB resistance, and can provide important information for developing genetic management of the disease. However, to our knowledge, transcriptomic studies during *X. phaseoli* pv. *phaseoli* infection are limited to a cDNA-AFLP analysis [47] and RT-qPCR assays focused on *R* genes [48, 49]. Previous work using *X. phaseoli* pv. *phaseoli* isolate W18 identified four QRLs to CBB in a cross between the Mesoamerican genotype BAT93 (resistant to CBB) and the Andean genotype JaloEEP558 (susceptible to CBB) [50]. These QRLs are located on chromosomes 2, 5, 7 and 9 and explain 75% of the phenotypic variation. Here, we

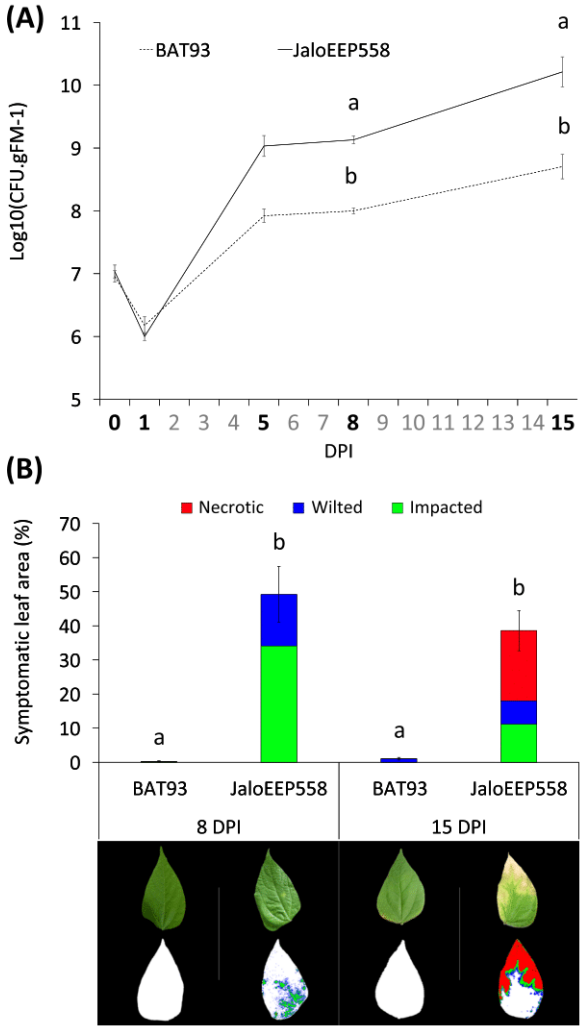


Fig. 1 Pathogenicity of strain CFBP6546R on BAT93 and JaloEEP558. Bacterial population sizes over time on BAT93 (dotted line) and JaloEEP558 (full line) (**a**). Quantification of symptoms assessed by chlorophyll fluorescence imaging at 8 and 15 DPI (**b**). Total symptomatic areas corresponded to the sum of impacted, wilted and necrotic tissues defined by using Fv/Fm tresholds as previously compared to visual inspection [52]. Error bars represent the standard errors of the means for three biological replicates. Below the histogram are examples of the leaflets presenting symptoms representative of each condition, obtained by chlorophyll fluorescence imaging (top) or visible imaging (bottom). Letters indicate significantly different groups (Mann-Whitney test, *p*-value < 0.05). CFU: colony-forming units. gFM: grams of fresh materials. DPI: days post inoculation

studied the transcriptomic response of BAT93 and JaloEEP558 to *X. phaseoli* pv. *phaseoli* strain CFBP6546R 48 h after inoculation.

Results

Pathogenicity assays

Resistance and susceptible phenotypes of common bean genotypes BAT93 and JaloEEP558 were demonstrated with bacterial growth and symptom development after inoculation with *X. phaseoli* pv. *phaseoli* strain CFBP6546R. For both genotypes, bacterial population sizes decreased during the first day, then increased rapidly up to day 5 and stabilized over time, which is a typical dynamic for common bean colonization by *Xanthomonas* [51]. However, bacterial population sizes were significantly higher on JaloEEP558 than on BAT93 (p-value < 0.05) at 8 and 15 days post inoculation (Fig. 1A). Moreover, BAT93 presented almost no symptoms, while 39 to 50% of the leaf area were symptomatic on JaloEEP558 (Fig. 1B). Symptoms 15 days post inoculation (DPI) were characterized by the apparition of necrotic areas that were not detected at 8 DPI. These results show that JaloEEP558 is susceptible, while BAT93 is resistant to strain CFBP6546R, as previously described for *X. phaseoli* pv. *phaseoli* isolate W18 [50].

Whole genome sequencing and annotation

The genomes of BAT93 and JaloEEP558 were sequenced and annotated to serve as basis for the mapping of corresponding RNA-Seq reads. For each genotype, Illumina sequencing produced around 3.2×10^8 paired reads totalizing 6.4×10^4 Mbp. The resulting assembly consisted of 36,622 scaffolds totalizing 453.0 Mbp for BAT93, and 31,483 scaffolds totalizing 449.3 Mbp for JaloEEP558, with a coverage of approximately 100X for both genotypes (Table 1). These assemblies represented around 84% of the *P. vulgaris* v2.1 reference genome (537.2 Mbp) from the Andean genotype G19833 [18] or 77% of the estimated genome size (~ 587 Mbp), and 82% of the BAT93 reference genome (549,6 Mbp) published by Vlasova et al. in 2016 [53]. Conversely, structural annotation predicted 33,275 and 32,914 protein coding genes for BAT93 and JaloEEP558, respectively, which are numbers higher than those found in the reference genomes of G19833 (27,433) or BAT93 (30,491). Reciprocal BLASTp (e-value $\leq 1 \times 10^{-6}$) using all predicted genes showed that our BAT93 and JaloEEP558 genome sequences shared more homologs (27,208) together than with both G19833 and BAT93 reference genomes (Table S1). Thus, to avoid possible biases due to different sequencing and annotation methods, we used our own version of the BAT93 genome for RNA-Seq mapping and comparative transcriptomic analysis between BAT93 and JaloEEP558. To ensure the quality of our data, we used a subset of homologs between BAT93 and JaloEEP558 that had the same best hit after BLASTp on the G19833 reference genome. After removal of paralogs, we obtained 20,787 unique genes that we used for all the analyses presented hereafter (Table S2).

Analysis of differentially-expressed genes

To explore the responses of BAT93 and JaloEEP558 to strain CFBP6546R, transcriptomes of inoculated

Table 1 Summary of sequencing, assembly and annotation data

	BAT93	JaloEEP558
Whole genome sequencing		
Assembly length (bp)	452,993,439	449,275,055
Coverage	108x	114x
Number of scaffolds	36,622	31,483
N50 (size/number)	35,794/3086	44,310/2481
N90 (size/number)	4951/16,296	5936/13,165
% of Ns	0.92%	0.84%
Annotation		
Predicted genes	33,275	32,914
RNA sequencing		
Average raw reads	23,237,717	23,040,441
Average mapped reads on genes	20,197,275	20,731,141
% of mapped reads on genes	87%	90%

leaves were produced. In other *Xanthomonas*-plant pathosystems such as tomato [54], rice [55] or sweet orange [56, 57], bacterial effectors impacted plant transcriptomes around 24 to 48 h after leaf infiltration. Here, we performed RNA-Seq analyses on inoculated leaves 48 h after infiltration. Illumina sequencing led to a total of 139.4 and 138.2 million raw reads for BAT93 and JaloEEP558 respectively, with an average of 23.2 million raw reads per sample for BAT93 and 23.0 million raw reads per sample for JaloEEP558 (Table 1). After stringent quality check, data cleaning and mapping, we obtained an average of 20.2 million mapped reads on genes per sample (87% of raw reads) for BAT93 and 20.7 million mapped reads on genes per sample (90% of raw reads) for JaloEEP558. Water-inoculated and bacteria-inoculated plants formed distinct groups after principal component analysis, confirming the similarity of biological replicates within each condition and the similarity of both genotypes after water treatment (Fig. S1). Similar trends were observed using a Pearson correlation matrix, indicating that the bacteria had a significant effect on the transcriptomes of both genotypes. After bacterial inoculation, a total of 5581 out of the 20,787 homologs were differentially expressed in at least one genotype compared to water inoculation (Table S3), using adjusted p-value < 0.05 and $|\log_2 FC| > 1.5$ (see Materials and Methods). Comparison of RT-qPCR and RNA-Seq values on 10 genes presenting different patterns of expression in BAT93 and JaloEEP558 revealed a high correlation for these genes (Pearson $r = 0.95$), further confirming the reliability of RNA-Seq data (Fig. S2).

Global impact of *X. phaseoli* pv. *phaseoli* on the transcriptome of common bean

The susceptible genotype initiated a more intense and diverse biological response than the resistant genotype. Indeed, differential expression analysis identified 2576 and 4503 differentially-expressed genes (DEGs) in BAT93 and JaloEEP558 respectively, which represents 12 and 22% of the total homologs, respectively (Fig. 2). Three groups of DEGs could be defined (Fig. 3). First, the core transcriptome consisting of 1482 genes simultaneously induced (758) or repressed (724) in both genotypes. Then, two specific transcriptomes, consisting of 1094 genes specifically induced (291) or repressed (803) in BAT93, and of 3021 genes specifically induced (1367) or repressed (1654) in JaloEEP558. Enrichment tests identified 83, 32 and 126 gene ontology (GO) terms enriched in the core, the BAT93-specific and the JaloEEP558-specific transcriptomes, respectively (Table S4). To remove redundancy and poorly-informative GO terms, we focused our analysis on biological process GO terms summarized using REVIGO [58]. This analysis highlighted 20, 11 and 29 GO terms enriched in the core, the BAT93-specific and the JaloEEP558-specific transcriptomes, respectively (Fig. 4). We hypothesized that the core transcriptome was representative of the general response of common bean to *X. phaseoli* pv. *phaseoli*, while the differences observed between the two specific transcriptomes likely reflected the differences in resistance or susceptibility observed between both genotypes faced to *X. phaseoli* pv. *phaseoli*.

Resistance was linked to downregulation of photosynthesis while susceptibility was linked to downregulation of defenses. In BAT93, the most significantly enriched GO terms were related to photosynthesis (Table S4), with a large majority of repressed genes (Fig. 4), suggesting that the resistant genotype strongly suppresses production of primary energy. On the other hand, the most significantly enriched GO terms in JaloEEP558 were related to cell death (Table S4), with a majority of repressed genes annotated as *R* genes from the NLR family. Together with the fact that genes belonging to the GO term “defense responses” were predominantly repressed in this genotype (Fig. 4), this suggests that global defense responses are suppressed in the susceptible genotype. Interestingly, “signaling” was enriched in the specific transcriptomes of both BAT93 and JaloEEP558 as well as in the core transcriptome. DEGs belonging to “signaling” were mostly upregulated in the core transcriptome, while specific transcriptomes comprised both upregulated and downregulated genes. This suggests that common signaling pathways were induced in both genotypes, while other were specifically up- or downregulated in one genotype or another.

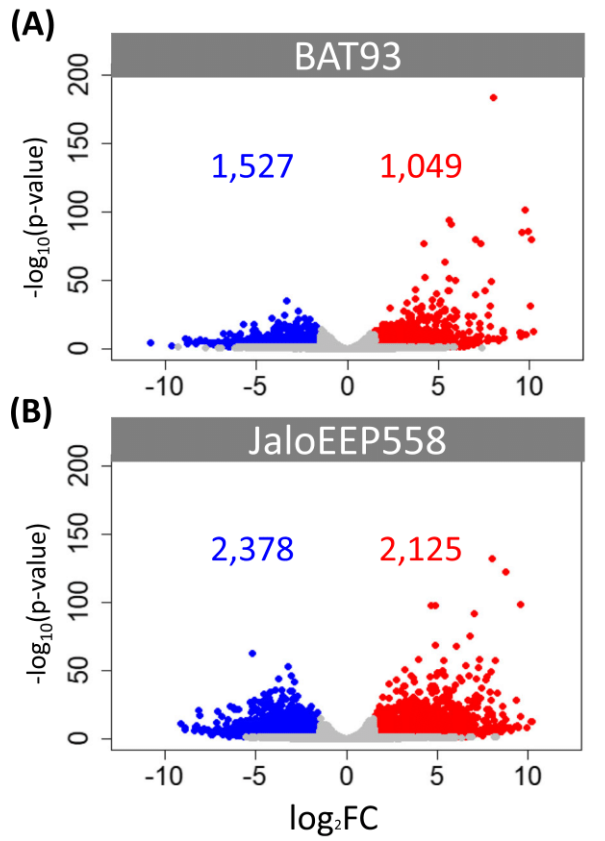


Fig. 2 Global impact of strain CFBP6546R on the transcriptomes of BAT93 and JaloEEP558. Volcano plots represent the distribution of DEGs (adjusted *p*-value < 0.05, $|\log_2 FC| > 1.5$) 2 days after inoculation of CFBP6546R on BAT93 (**a**) and JaloEEP558 (**b**). Each dot represents a gene either being upregulated (red), downregulated (blue) or non-differentially expressed (grey)

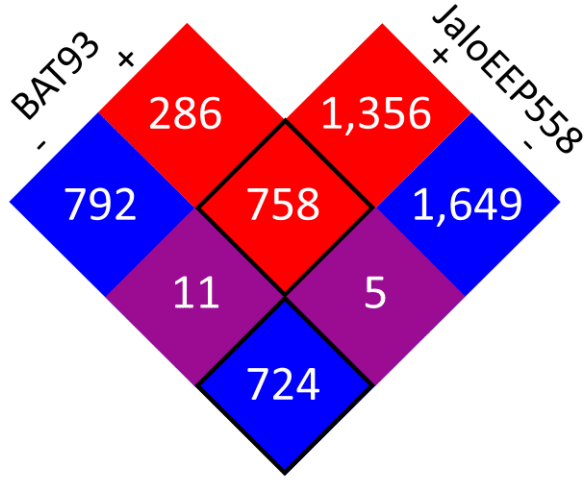


Fig. 3 Venn diagram depicting the numbers of DEGs in BAT93 and JaloEEP558 during the interaction with strain CFBP6545R. Induced genes are highlighted in red while repressed genes are in blue. Purple squares represent genes with opposite responses in BAT93 and JaloEEP558. The core transcriptome corresponding to genes simultaneously induced or repressed in both genotypes is framed in black

GO analysis done using up- and downregulated genes separately highlighted different GO terms than when using the whole dataset of DEGs (Table S5). It pointed out an upregulation of RNA metabolism and gene expression, as well as in nitrogen compound metabolic process in JaloEEP558, while the later was downregulated in BAT93.

Detailed differences between resistant and susceptible genotypes

MapMan visualization gave a detailed overview of the differences between the resistant and susceptible genotypes (Fig. 5). In accordance with the GO analysis, Wilcoxon Rank Sum Test obtained with MapMan showed that genes related to photosynthesis were enriched in the BAT93-specific transcriptome, while defense genes related to biotic stress and signaling (RLK and PR genes) were enriched in the JaloEEP558-specific transcriptome (Table S6). Additionally, genes related to cell wall modification, ethylene signaling pathway and fatty acid metabolism were specifically enriched in JaloEEP558. To analyze the differences between both genotypes in more detail, we generated lists of genes from different classes (see Materials and Methods) and performed a KEGG analysis of hormonal signaling pathways (Table S7, Fig. S3).

NLR and RLK genes

We observed a specific repression of 30 NLR genes in the susceptible genotype while only one was specifically repressed in BAT93 (Table S7). Additionally, two NLR genes were specifically induced in JaloEEP558, while one (Phvul.006G056500) was both induced in BAT93 and repressed in JaloEEP558, thus appearing as a good candidate for being involved in CBB resistance. The RLK family presented a more complex pattern than NLRs, with a large number of RLK genes specifically induced or repressed in each genotype. More RLKs were repressed than induced in both genotypes, with 11 and 40 specifically induced and 34 and 125 specifically repressed in BAT93 and JaloEEP558, respectively (Table S7). As a result, more RLKs were differentially-expressed in the susceptible genotype than in the resistant genotype.

Kinases

A majority of kinases other than RLKs was induced in the core transcriptome (15/17, Table S7). In particular, four genes encoding calcium-dependent protein kinases (CDPKs) and calcineurin B-like protein-interacting protein kinases (CIPKs) were induced in both genotypes, indicating that genes linked to calcium signaling were

GO	Description	Core			BAT93 specific			JaloEEP558 specific		
		DEGs		Mean	DEGs		Mean	DEGs		Mean
		Up	Down	Log2FC	Up	Down	Log2FC	Up	Down	Log2FC
GO:0023052	signaling	17	4	2,0	8	6	0,2	23	50	-1,0
GO:0050794	regulation of cellular process	83	32	1,6	28	47	-0,6			
GO:0009058	biosynthetic process	96	62	1,0	37	71	-0,7			
GO:0009059	macromolecule synthesis	77	43	1,1	26	45	-0,7			
GO:0006807	nitrogen compound metabolism	84	48	1,1	29	60	-0,7			
GO:0065007	biological regulation	85	42	1,3				127	101	0,6
GO:0010467	gene expression	70	36	1,3				115	94	0,6
GO:0008152	metabolic process	229	284	-0,2				399	606	-0,4
GO:0051179	localization	20	49	-0,9				53	98	-0,8
GO:0019538	protein metabolism	50	94	-0,6				102	212	-0,9
GO:0043687	post-translational modification	35	60	-0,5				65	145	-1,1
GO:0043412	macromolecule modification	38	61	-0,5				67	157	-1,1
GO:0055114	oxidation-reduction process	40	60	-0,5						
GO:0006468	protein phosphorylation	31	55	-0,6						
GO:0006810	transport	20	49	-0,9						
GO:0050896	response to stimulus	10	19	-1,2						
GO:0006508	proteolysis	7	22	-1,3						
GO:0006950	response to stress	6	13	-1,5						
GO:0042221	response to chemical	3	10	-1,8						
GO:0015979	photosynthesis	0	10	-2,7	0	26	-3,2			
GO:0019684	photosynthesis, light reaction				0	15	-3,7			
GO:0006857	oligopeptide transport				0	12	-3,7			
GO:0006091	metabolic energy generation				0	22	-3,4			
GO:0006139	nucleobase-containing metabolism				26	50	-0,7			
GO:0044249	cellular synthesis				34	60	-0,6			
GO:0006355	regulation of transcription							100	70	0,8
GO:0009987	cellular process							323	501	-0,5
GO:0044238	primary metabolism							286	445	-0,5
GO:0044281	small molecule metabolism							29	79	-0,9
GO:0006629	lipid metabolism							22	42	-1,0
GO:0006793	phosphorus metabolism							66	139	-1,0
GO:0019752	carboxylic acid metabolism							14	43	-1,1
GO:0006464	protein modification process							67	155	-1,1
GO:0055085	transmembrane transport							22	61	-1,3
GO:0009308	amine metabolism							9	36	-1,5
GO:0046483	heterocycle metabolism							3	19	-1,5
GO:0006952	defense response							3	13	-1,6
GO:0032501	multicellular organismal process							4	21	-1,8
GO:0009309	amine biosynthesis							3	17	-1,8
GO:0007154	cell communication							5	24	-1,9
GO:0009856	pollination							2	21	-2,4
GO:0000003	reproduction							2	21	-2,4
GO:0051704	multi-organism process							2	21	-2,4
GO:0008037	cell recognition							2	21	-2,4
GO:0012501	programmed cell death							2	30	-2,5
GO:0008219	cell death							2	32	-2,6

Scale: -2, -1, 0, 1, 2

Fig. 4 Enrichment tests on the core, the BAT93-specific and the JaloEEP558-specific transcriptomes. Enrichment tests were performed using the Parametric Analysis of Gene set Enrichment (PAGE) analysis on AgriGO v2 [59]. GO terms were considered enriched when comprising a minimum of 10 genes and presenting a False Discovery Rate (FDR) below 0.05. Enriched GO terms presented here were summarized using REVIGO [58]. Mean log_2FC corresponds to the mean expression calculated using the log_2FC from all DEGs within each GO. Grey boxes correspond to non-enriched GO terms

induced in common bean during the interaction with *X. phaseoli* pv. *phaseoli* whatever the outcome (resistance or disease). In the JaloEEP558-specific transcriptome, a large modulation of the expression of kinases occurred, which followed the same trend of induction (20/29) than what was observed in the core transcriptome. On the other hand, BAT93-specific transcriptome was less impacted and a majority of kinases (10/12) was repressed.

Transcription factors

A larger induction of transcription factors (TFs) was specifically observed in JaloEEP558 (137/268) compared to BAT93 (28/91, Table S7). TFs from the APETALA2/ethylene response factor (AP2/ERF) superfamily presented the most differences between both genotypes (Fig. S3). Indeed, much more AP2/ERF genes were specifically induced in JaloEEP558 (32) than in BAT93 (4). In the meantime, less AP2/ERF genes were repressed in JaloEEP558 (6) than in BAT93 (8). This indicates a specific induction of AP2/ERF genes in the susceptible genotype 48 h post-inoculation. Similar patterns were observed for the MYB family, although with smaller differences between both genotypes compared to AP2/ERFs (Fig. S3). Other major TF families such as WRKY and GRAS were more impacted (i.e. both more induced and more repressed) in JaloEEP558 than in BAT93.

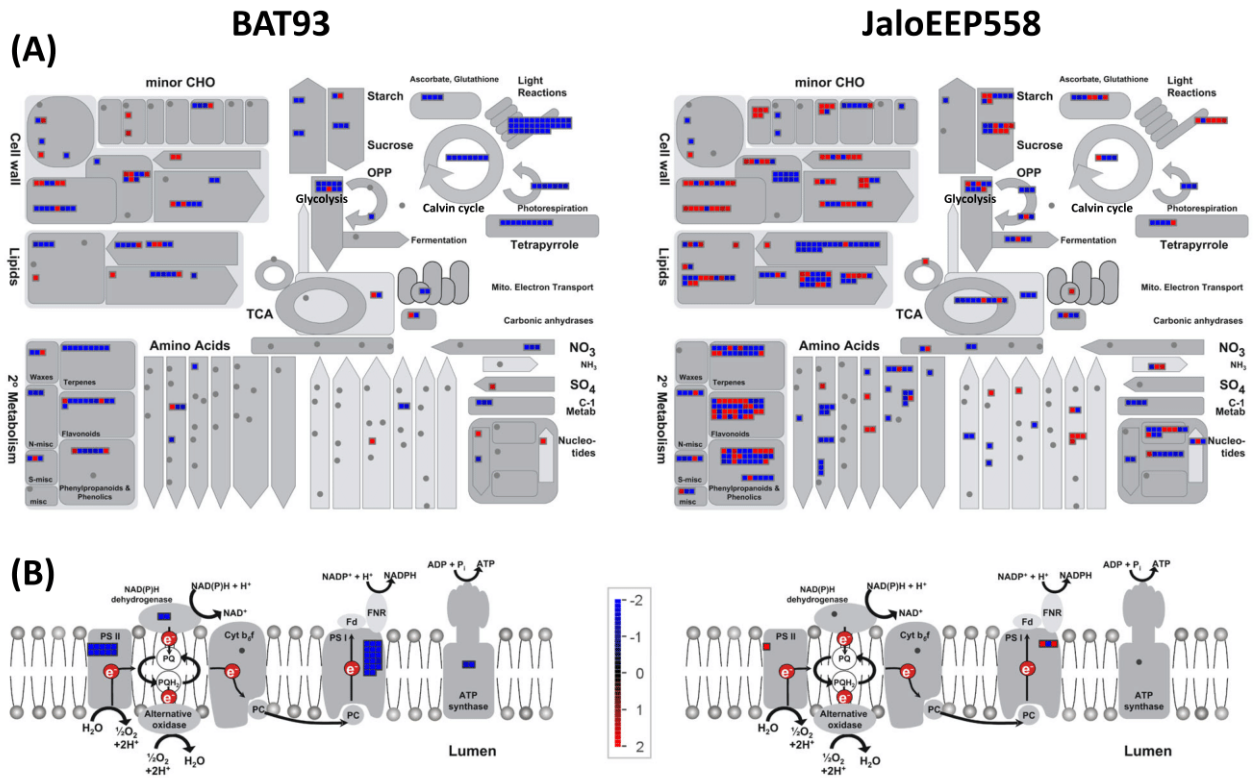


Fig. 5 MapMan overview of DEGs in metabolic pathways (**a**) and the photosynthetic electron transport chain (**b**). DEGs from the specific transcriptomes of BAT93 (left) or JaloEEP558 (right) are represented by squares colored in blue (repressed) or red (induced) following the scale bar displaying changes in gene expression values in $\log_2$FC (in the center)

Lipid metabolism

Lipid metabolism was more impacted in the susceptible genotype (72 specific DEGs) than in the resistant genotype (23 specific DEGs, Table S7). Significantly, a large majority of genes involved in fatty acid synthesis (20/21) was specifically repressed in JaloEEP558 (Fig. 5a, Table S7). Some genes encoding proteins involved in lipid degradation, such as Alpha/beta hydrolases were also repressed in JaloEEP558, while others were upregulated, indicating that lipid degradation was impacted in different ways in the susceptible genotype [60]. On the other hand, fatty acid desaturases were mostly repressed in BAT93. Notably, the homolog of fatty acid desaturase 8 (*FAD8*, Phvul.006G068600) was both induced in JaloEEP558 and repressed in BAT93. These enzymes could play a role in defense activation [61, 62], hormone synthesis [63], increased membrane fluidity and influence membrane properties of chloroplasts [64]. Here, repression of these genes in the resistant genotype could be linked to the induction of plant defenses.

Photosynthesis and sugar metabolism

A global downregulation of photosynthesis and sugar metabolism occured in the resistant compared to the susceptible genotype (Fig. 5a). In particular, genes linked to the biosynthesis of photosystems I and II, the NAD(P)H deshydrogenase and the ATP synthase where largely repressed in BAT93 (Fig. 5b). By contrast, in JaloEEP558 three genes linked to the photosynthetic electron transport chain were induced. This result indicated a specific repression of the photosynthetic electron transport chain in the resistant genotype. More generally, the whole reactions taking place in the chloroplast appeared downregulated in the resistant genotype, including the Calvin cycle, tetrapyrrole synthesis, photorespiration, the ascrobate and glutathione redox pathways (Fig. 5a). Sucrose and starch biosynthesis and degradation, and glygolysis were also specifically repressed in BAT93 (Fig. 5a).

Cell wall

Susceptibility was linked to the induction of cell wall modification and repression of cellulose biosynthesis while resistance was linked to the repression of genes involved in cell wall modification. Indeed, most genes involved in cell wall modification and degradation were induced in JaloEEP558 and repressed in BAT93. This was the case of xyloglucan endotransglycosylases, expansins, pectin methylesterase inhibitors, and glycosyl hydrolases (Fig. 5a and Table S7). On the other hand,

genes involved in cellulose biosynthesis such as cellulose synthases were repressed in JaloEEP558.

Hormone signal transduction

Resistance and susceptibility were marked by opposite hormone signal transduction pathways. Indeed, resistance was linked to upregulation of SA signaling, while susceptibility was linked to upregulation of the ethylene pathway and downregulation of the SA and cytokinin pathways (Fig. S4). Several genes involved in resistance signaling were specifically repressed in JaloEEP558 such as the homolog of PATHOGENESIS-RELATED 1 (*PR1*, Phvul.006G197100) that was also specifically induced in BAT93 [65]. *PR1* being a marker of SA accumulation, these results suggest that upregulation of the SA pathway occurred in the resistant genotype while it was suppressed in a susceptible context. Consistently, cytokinin signaling was suppressed in JaloEEP558. This is highlighted by the strong induction of a homolog of genes encoding type A Arabidopsis response regulators (A-ARR), which are negative regulators of cytokinin signaling and SA-dependent basal immunity [66]. As described in the MapMan enrichment analysis, many genes involved in ethylene signaling were specifically induced in the susceptible genotype, including AP2/ERF genes (Table S6, Fig. S3). This trend is confirmed by the induction of homologs from ETHYLENE RESPONSE (ETR) and ERF1/2 genes (Fig. S4). Genes involved in other hormonal signaling pathways (auxin, brassinosteroids, gibberellins or abscisic acid) also showed contrasting expression profiles between resistant and sensitive genotypes, although the differences observed were not strong enough to be conclusive.

Candidate genes for resistance to CBB

To search for genes putatively responsible for the resistance observed in BAT93, we have cross-checked different pieces of information that may suggest the involvement of certain genes in resistance to CBB. The different criteria we searched for were (*i*) that there was a large difference of $\log_2$FC values between the susceptible and resistant genotypes, (*ii*) that the gene was induced in one genotype and repressed in the other, and (*iii*) that the gene colocalized with a locus of resistance to CBB.

Genes with high $\log_2$FC difference

Interestingly, 201 DEGs had a large difference of expression ($|\Delta\log_2FC| > 5$) between BAT93 and JaloEEP558 (Table S8). Among those genes, 148 (74%) were more expressed in JaloEEP558 than in BAT93. This proportion was higher than what was observed for the whole dataset (52%), and this difference was even higher when focusing on the top 50 genes with the largest $|\Delta\log_2FC|$, among which 46 had a higher $\log_2$FC in JaloEEP558 than in BAT93 (Table S3). This indicates that the greatest differences observed between the two genotypes were due to genes strongly induced in JaloEEP558 and/or strongly repressed in BAT93. Of these 148 genes, the Heat Shock Protein (HSP) family was the most represented with 13 members, four of which belonged to the top 10 genes more expressed in JaloEEP558 than in BAT93. Significantly, three genes from the Lateral Organ Boundaries (LOB) family belonged to the list of 148 genes. Two of these *LOB* genes (Phvul.007G195100 and Phvul.008G257400) were ranked second and 15th of the most induced genes in JaloEEP558, suggesting that the induction of *LOB* genes is important for susceptibility. On the other hand, 53 genes had a higher $\log_2$FC in BAT93 than in JaloEEP558 (Table S8). A large proportion of these genes belonged to families related to resistance such as RLKs (7), NLRs (2) and PRs (2), indicating that a classical resistance response occurred in BAT93.

Genes with opposite reactions to X. phaseoli pv. phaseoli

Only 16 DEGs were simultaneously induced in one genotype and repressed in the other one (Table S9). Among those, 11 were both repressed in BAT93 and induced in JaloEEP558, suggesting that they contribute to either suppressing defenses and/or promoting disease (Fig. 3). Of those, six had also a $|\Delta\log_2FC| > 5$, which encoded different proteins including a plasmodesmata-located protein (Phvul.001G229800), an HSP (Phvul.001G039700), a Lipid-Transfer Protein (Phvul.008G137100), a kinase (Phvul.008G081300), a pectin methylesterase inhibitor (Phvul.002G318500) and a sulfite exporter from the TauE/SafE family (Phvul.001G061000) (Table 2, Fig. 6). On the other hand, five genes were both induced in BAT93 and repressed in JaloEEP558, suggesting that they positively regulate resistance to CBB. Four of these genes had also a $|\Delta\log_2FC| > 5$, including a placenta-specific 8 (PLAC8) family gene (Phvul.003G265800), an S-ribonuclease binding protein (SBP) family gene (Phvul.009G119200), a PR gene (Phvul.006G197100), and an ovate family gene (Phvul.009G057100).

Genes within QRLs

We positioned the four CBB QRLs previously identified in BAT93 on the bean reference genome and extracted the DEGs from specific transcriptomes located within these putative QRLs (Table S10). A total of 600 DEGs were retrieved in these four CBB QRLs, among which 24 (4.0%) had a $|\Delta\log_2FC| > 5$, which is similar to the ratio observed in the whole transcriptomic data where 201 out of 5581 DEGs (3.6%) had a $|\Delta\log_2FC| > 5$ (Fig. 6). In addition, 12 and 21% of the total genes were differently expressed in the QRLs of BAT93 and JaloEEP558, respectively, which is not different from what was observed for the whole transcriptome (Fig. 2). Thus, no specific pattern of expression could be observed in the QRLs compared to the rest of the common bean

Table 2 Candidate genes for resistance to CBB. Bold cases indicate non differentially-expressed genes (i.e. genes with $-1.5 < \log_2FC < 1.5$ and/or adjusted *p*-value ≥0.05)

Gene ID	Annotation	$\log_2FC$ BAT93	$\log_2FC$ JaloEEP558	$\lvert\Delta\log_2FC\rvert > 5$	Inverse pattern of expression	Colocation with QRLs
Phvul.001G039700	17.6 kDa class II HSP	-1,67	8,75	Yes	Yes	–
Phvul.001G061000	Sulfite exporter TauE/SafE family	-1,86	3,23	Yes	Yes	–
Phvul.001G229800	plasmodesmata-located protein 7	-5,58	5,80	Yes	Yes	–
Phvul.002G212000	HSP20-like chaperones superfamily	**-2,96**	7,52	Yes	–	Yes
Phvul.002G231500	HSP20-like chaperones superfamily	-3,20	**9,04**	Yes	–	Yes
Phvul.002G243500	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily	-8,35	**-2,79**	Yes	–	Yes
Phvul.002G249800	RmlC-like cupins superfamily	-3,81	**1,43**	Yes	–	Yes
Phvul.002G318500	Pectin methylesterase inhibitor	-1,86	3,43	Yes	Yes	–
Phvul.003G265800	PLAC8 family protein	3,25	-4,07	Yes	Yes	–
Phvul.005G014200	NLR	**-1,02**	-8,31	Yes	–	Yes
Phvul.005G034000	cytokinin oxidase/dehydrogenase 6	-9,67	**-0,86**	Yes	–	Yes
Phvul.005G044600	NAC (No Apical Meristem) domain transcriptional regulator superfamily	**0,46**	5,50	Yes	–	Yes
Phvul.005G049700	LOB 4	**-1,25**	4,23	Yes	–	Yes
Phvul.005G058600	MLP-like protein 43	**4,19**	-2,73	Yes	–	Yes
Phvul.005G085800	light-harvesting chlorophyll B-binding protein 3	-5,41	**-0,30**	Yes	–	Yes
Phvul.005G097600	plasmodesmata callose-binding protein 5	**1,33**	-3,99	Yes	–	Yes
Phvul.005G097800	bZIP transcription factor	**-1,98**	3,92	Yes	–	Yes
Phvul.006G197100	Pathogenesis-related 1 protein	4,85	-1,52	Yes	Yes	–
Phvul.007G013000	Eukaryotic aspartyl protease family	-5,87	**1,45**	Yes	–	Yes
Phvul.007G018600	FAD/NAD(P)-binding oxidoreductase family	-1,88	2,98	–	Yes	Yes
Phvul.007G024800	Major facilitator superfamily	**1,05**	-4,98	Yes	–	Yes
Phvul.007G030300	receptor serine/threonine kinase, putative	**-1,32**	-6,34	Yes	–	Yes
Phvul.007G038400	CYCLIN D3;1	-7,76	**-2,01**	Yes	–	Yes
Phvul.007G049700	cysteine-rich RLK 29	-1,88	1,68	–	Yes	Yes
Phvul.007G051300	cysteine-rich RLK 25	**0,49**	-5,54	Yes	–	Yes
Phvul.008G081300	Protein kinase superfamily	-3,96	3,96	Yes	Yes	–
Phvul.008G137100	Lipid-transfer protein	-3,68	5,63	Yes	Yes	–
Phvul.009G030900	Unknown protein	-5,53	**0,56**	Yes	–	Yes
Phvul.009G057100	ovate family protein 7	4,64	-4,99	Yes	Yes	Yes
Phvul.009G080200	17.6 kDa class II HSP	-3,10	**4,47**	Yes	–	Yes
Phvul.009G084400	Integrase-type DNA-binding superfamily	**-0,53**	7,55	Yes	–	Yes
Phvul.009G094000	plant natriuretic peptide A	**-0,53**	8,66	Yes	–	Yes
Phvul.009G097500	mitotic-like cyclin 3B	-5,85	**-0,65**	Yes	–	Yes
Phvul.009G106200	proline extensin-like receptor kinase 1	**-2,56**	2,82	Yes	–	Yes
Phvul.009G119200	SBP family	1,54	-4,90	Yes	Yes	–

genome. Among the genes in QRLs with $\lvert\Delta\log_2FC\rvert > 5$, the three most repressed genes in JaloEEP558 were one NLR gene (Phvul.005G014200) and two RLK genes (Phvul.007G051300 and Phvul.007G030300). Thus, these three genes represent good candidates for CBB resistance. The previously described HSP (Phvul.002G231500, Phvul.002G212000 and Phvul.009G080200) and LOB (Phvul.005G049700) genes specifically induced in JaloEEP558 or repressed in BAT93 were also retrieved in these QRLs.

Only one gene presented the three characteristics of being induced in BAT93 while repressed in JaloEEP558, having a $\lvert\Delta\log_2FC\rvert > 5$ and locating in a QRL to CBB. This gene (Phvul.009G057100) is located within the

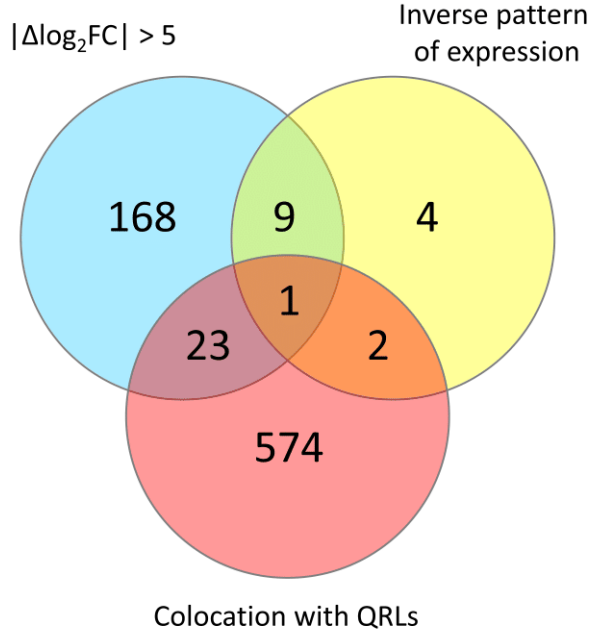


Fig. 6 Venn diagram showing the numbers of DEGs potentially linked to resistance to CBB. The blue circle represents DEGs with a high $\Delta\log_2$FC between BAT93 and JaloEEP558 ($|\Delta\log_2 FC| > 5$), the yellow circle represents DEGs with an inverse expression pattern between BAT93 and JaloEEP558 and the red circle represents DEGs that co-located with one of the four QRLs against CBB, described in the progeny of BAT93xJaloEEP558 [50]

QRL associated to marker *D0157* on chromosome 9. It belongs to the ovate family, which is involved in plant growth regulation and can suppress elongation [67–69].

Discussion

In this work, we used RNA-Seq data to investigate the transcriptomic response of resistant and susceptible common bean genotypes during their interaction with *X. phaseoli* pv. *phaseoli.* Importantly, our work provided novel whole genome sequence data of two parental lines of a reference population (BAT93 x JaloEEP558) used in many genetic and genomic studies, including mapping of disease resistances [70–78].

A global trend was that the proportion of DEGs was higher in the susceptible genotype (22%) than in the resistant genotype (12%). This result highlights that susceptibility results in a larger reprogramming of gene expression than resistance, which was not surprising since a similar trend was observed in many other studies describing plant transcriptomic responses to diverse plant pathogens including fungi, bacteria and viruses [79–83].

In the core transcriptome, the induction of genes from the CIPK and CDPK families suggests that both genotypes are able to perceive *X. phaseoli* pv. *phaseoli* through Ca^{2+} signaling [84–87]. Following this hypothesis, the susceptibility to CBB observed in JaloEEP558 would result from inhibition of PTI by bacterial effectors rather than from non-detection by PRRs. In accordance with this, the susceptible genotype displayed a large repression of genes putatively involved in PTI such as RLKs, as well as defense response and NLR genes. This indicates that successful bean colonization by *X. phaseoli* pv. *phaseoli* is linked to suppression of plant defenses and reflects a potential involvement of bacterial effectors.

Pathogenic bacteria from the genus *Xanthomonas* are often described as hemibiotrophic [88]. Here, apparition of necrotic tissues suggested that *X. phaseoli* pv. *phaseoli* shifted from biotrophic to necrotrophic from 8 to 15 DPI. The defense response to biotrophic and hemibiotrophic pathogens is usually regulated by SA while defense responses to necrotrophic pathogens classically involve JA and ethylene [13, 89]. Here, a global induction of the SA pathway was linked to resistance, suggesting that an adapted SA response is effective in BAT93 48 h after infection by *X. phaseoli* pv. *phaseoli*. On the other hand, susceptibility was linked to the induction of the ethylene pathway and repression of the SA pathway, which are often described as being antagonistic to each other [89]. The induction of the ethylene pathway is reminiscent of the observation that ethylene is implicated in increased symptoms in other *Xanthomonas*-plant pathosystems [90–92]. In this view, it is tempting to speculate that ethylene is involved in successful colonization by *X. phaseoli* pv. *phaseoli*, while SA is involved in common bean resistance to CBB.

The specific suppression of photosynthesis, sugar metabolism and other chloroplast-associated genes observed in BAT93 reflects a rather classical defense response. Indeed, similar trends have been described using transcriptomics in different interactions between plants and bacteria [93–96] and integration of transcriptomic data from different pathosystems led to the hypothesis that suppression of photosynthesis is part of the plant adaptive immunity [97]. In addition, several studies have shown that incompatible interaction is linked to a decrease in photosynthetic activity [98–101] and that inhibition of photosynthesis often leads to the accumulation of reactive oxygen species [102]. Supporting this, it is interesting to note that *Xanthomonas citri* pv. *citri* is able to counter the decrease in photosynthesis by mimicking a plant natriuretic peptide, leading to suppression of resistance in citrus leaves [103].

The plant cell wall plays an important role in plant immunity, both as a physical barrier against pathogens and by releasing signaling compounds known as DAMPs when altered [104]. Successful pathogens are usually able to degrade the plant cell wall to access nutrients. In JaloEEP558, specific induction of genes involved in cell wall modification, such as expansins, xyloglucan endotransglycosylases and glycosyl hydrolases, suggests that

remodeling of cell wall occurred in the susceptible genotype [105, 106]. In accordance with this, early CBB phenotype usually corresponds to water-soaking symptoms involving the softening and loosening of the cell wall. In contrast, cell wall modification genes were repressed in BAT93, which could suggest that cell wall rigidification occurred in the resistant genotype, thus preventing bacterial progression. Modification of the cell wall is tightly linked to cell size and shape and to morphogenesis of plant organs [107]. Interestingly, transcription factors from the LOB and ovate families were found both among the most differentially expressed genes between BAT93 and JaloEEP558, and among the DEGs located in QRLs to CBB.

LOB is a family of plant-specific transcription factors with key roles in the regulation of plant organ development [108, 109]. Induction of *CsLOB1* by *Xanthomonas* in *Citrus sinensis* triggers cell expansion and is required for symptom development [57]. Induction of *LOB* genes can induce genes involved in cell wall modification such as pectin methylesterase inhibitors [110]. Here, the strong induction of *LOB* genes in JaloEEP558 could contribute to the induction of downstream genes involved in cell wall modification and to the development of symptoms. The *LOB* gene Phvul.005G049700 is located on chromosome 5 and colocates with a QRL linked to marker *D1081*, explaining 15% of the phenotypic vartiation [50]. Therefore, Phvul.005G049700 could putatively act as a negative regulator of resistance to CBB.

On the other hand, the ovate family member Phvul.009G057100 was strongly induced in the resistant genotype and repressed in the susceptible genotype. This gene could positively contribute to CBB resistance as it colocates with a QRL on chromosome 9 that is linked to marker *D0157*, and explains 13% of the phenotypic variation [50]. Consistent with this hypothesis, ovate family members act as transcriptional repressors involved in the suppression of cell growth and elongation as well as in the regulation of secondary cell wall and vascular development [67–69]. However, to our knowledge, the ovate family has not so far been described as playing any role in plant-pathogen interaction.

Altogether, our analyses pointed out different molecular pathways appearing important for either promoting disease in the susceptible genotype or triggering immunity in the resistant genotype. The genes involved in these pathways were scattered throughout the whole common bean genome, which reflects the complexity of CBB resistance. In particular, large clusters of dozens of NLR genes exist at common bean subtelomeres [111–114] but the 30 NLRs repressed in JaloEEP558 following *X. phaseoli* pv. *phaseoli* infection did not correspond to the specific repression of one of these clusters. Thus, no particular locus was unveiled as being responsible for CBB resistance. To summarize, resistance was linked to suppression of photosynthesis and sugar metabolism and induction of the SA pathway, while susceptibility was linked to downregulation of plant defenses and upregulation of the ethylene pathway and AP2/ERF transcription factors as well as genes involved in cell wall modification.

Xanthomonas bacteria possess transcription activator-like effectors (TALE) that are type III effectors able to induce the transcription of genes by specifically binding to the promoter of plant susceptibility genes and recruiting the transcription machinery [115]. Nine different TALE-encoding genes and alleles have been described in CBB agents [116]. Strain CFBP6546R used in this study bears *tal19I* and *tal18H* [116]. Interestingly, most of the pathways induced in the susceptible genotype or repressed in the resistant genotype were previously described as being induced by TALEs to promote disease [117]. For example, the best-characterized TALE targets so far are *SWEET* genes that encode sugar exporters presumably providing nutrients for the pathogen [118–121]. *SWEET* gene induction by TALE has been described in the interaction of *Xanthomonas* with rice [121–127] cassava [128] and cotton [129]. According to our results, it is tempting to speculate that the suppression of photosynthesis and sugar metabolism observed in the resistant genotype could lead to the reduction of sugar production by the plant cells, thus contributing to resistance by depriving bacteria of sugar. Interestingly, one *SWEET* gene (Phvul.009G134300) was specifically repressed in the resistant genotype, while another one (Phvul.002G203600) was specifically induced in the susceptible genotype. However, Phvul.002G203600 was not predicted as a target of TAL19I or TAL18H [116]. Thus, but it seems that its induction was not due to the action of TALEs.

Other TALE targets include different types of TFs from the AP2/ERF [130], bHLH [54, 131] or LOB [57, 132, 133] families, which is reminiscent of what was observed here in the susceptible genotype. Interestingly, these targets are often linked to cell wall reorganization and modification of the plant cells shape. In pepper, the TALE AvrBS3 from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* induces the bHLH TF UPA20, which leads to the hypertrophy of leaf cells [131]. In tomato, AvrHah1 from *X. gardneri* targets another bHLH TF whose induction upregulates the expression of a pectate lyase responsible for the apparition of water soaking symptoms [54]. In citrus, the induction of *CsLOB1* by different TALEs from *X. citri* pv. *citri* or *X. citri* pv. *aurantifolii* is required for the apparition of canker symptoms due to hyperplasia and rupture of the epidermis in infected tissue [57, 132, 133]. Here, the JaloEEP558-specific induction of *LOB* homologs and other genes involved in cell wall

degradation and modification suggests that *X. phaseoli* pv. *phaseoli* employs mechanisms similar to what was observed in tomato and citrus. The parallel observed between our transcriptomic data and TALE targets in different plant species suggests that TALE evolution was driven by the necessity to target pre-existing susceptibility hubs in plants. This also raises the question as to whether *AP2/ERF*, *bHLH*, pectate lyases, or *LOB* homologs could constitute direct targets for TALEs from *X. phaseoli* pv. *phaseoli* in common bean. Thus, searching for *X. phaseoli* pv. *phaseoli* TALE targets in common bean would bring valuable knowledge on the molecular interactions between common bean and *X. phaseoli* pv. *phaseoli*.

Conclusions

The analyses presented here bring novel information about the transcriptomic response of common bean to *X. phaseoli* pv. *phaseoli* attack, and may help to better understand the mechanisms underlying resistance to CBB in common bean. The global trends observed here lead to the hypothesis that the transcriptome of susceptible varieties is largely manipulated by the bacterium, while resistant varieties retain control of their transcriptome, increase signaling and adapt their metabolism for defense purposes.

Methods

Plant materials, bacterial strains and growing conditions

The original seeds from common bean cultivars BAT93 (Mesoamerican) and JaloEEP558 (Andean) were obtained from the Center for Tropical Agriculture (CIAT, Colombia) and are available under accession numbers G51294 and G9603, respectively (http://genebank.ciat.cgiar.org/genebank/main.do). Common bean cultivars were seeded in plastic pots (7 × 7 × 8 cm) containing prewetted soil. Plants were grown in a growth chamber at 23 °C/20 °C (day/night) with 80% relative humidity and a photoperiod of 16 h. Plants were watered every 2 days with water for the first 10 days, then with a nutrient solution of N-P-K (15–10-30). The day before inoculation, relative humidity and temperature were increased at 95% and 28 °C/25 °C (day/night) to provide adequate conditions for infection.

X. phaseoli pv. *phaseoli* strain CFBP6546R is a rifamycin-resistant derivative of strain CFBP6546. This strain was grown at 28 °C for 48 h on Trypticase Soy Agar (TSA) medium (17.0 g.L^{-1} pancreatic digest of casein; 3.0 g.L^{-1} enzymatic digest of soya bean; 5.0 g.L^{-1} NaCl; 2.5 g.L^{-1} K_2HPO_4; 2.5 g.L^{-1} glucose; 15 g.L^{-1} agar) supplemented by rifamycin (50 mg. L^{-1}), then at 28 °C for 24 h on TSA10 (a 1/10 dilution of TSA, except for agar maintained at 15 g.L^{-1}) supplemented by rifamycin (50 mg. L^{-1}) to obtain fresh bacterial cultures.

Pathogenicity assays

Inoculations were performed at stage V1 (first trifoliolate leaf unfolded) by dipping the first trifoliate leaf for 30 s into bacterial suspensions calibrated at 1×10^7 CFU.mL^{-1} in sterile distilled water (CFU: colony-forming unit). Water-inoculated plants were used as control. For bacterial population sizes, at least three plants per condition were harvested at 2 h, 1, 5, 8, and 15 days post-inoculation (DPI). Each trifoliate leaf was ground individually for 2 min in a plastic bag supplemented with 10 mL of distilled water, using a Stomacher 80 (Seward, London, United Kingdom) at maximum power. Appropriate dilutions were plated on TSA10 supplemented by rifamycin (50 mg. L^{-1}) and incubated at 28 °C for 72 h before counting. At 8 and 15 DPI, symptom development was monitored by chlorophyll fluorescence imaging [134] at the PHENOTIC Seeds and Plants platform of the IRHS in Angers (France). Each leaflet was set in the dark for 30 min. Then, a first picture was taken under a modulated flash of light to measure basal fluorescence (F0) of the tissues, followed by another picture taken under a high flash of saturating light to measure the maximum fluorescence emission level (Fm). For each pixel, the maximum quantum yield of photosystem II photochemistry (Fv/Fm = (Fm-F0)/Fm) was calculated with Phenoplant (http://www.phenoplant.org) to discriminate diseased and healthy leaf areas [52]. Diseased areas were divided into different Fv/Fm clusters according to the intensity of the symptoms (impacted, wilted and necrotic) [52]. Pathogenicity assays were performed twice independently.

Bean whole genome sequencing, assembly and annotation

Genomic DNA was extracted from young leaves and buds using the Nucleospin Plant II kit (Macherey-Nagel, Hoerdt, France). Paired libraries were prepared using the Illumina TruSeq Nano DNA Library prep kit, then sequenced at 2 × 150 bp on an Illumina HiSeq3000. Reads were trimmed to the first undefined base and assembled using SOAPdenovo software with k-mer size of 81 bp and max read length of 100 bp. Assembled contigs were gap filled and spurious assemblies were removed using redundancy search (97% identity, maximum overhang 50 bp). Scaffolds of minimum 1000 bp with at least 500 bp defined were retained. Annotation of the whole genome assembly was performed using EuGene-EP pipeline [135] using our BAT93 or JaloEEP558 RNA-Seq assemblies and four different protein databases as training sets for structural annotation: TAIR10, Swiss-Prot, UniProt plant subset and predicted proteins from the soybean (*Glycine max*) reference genome [136]. Gene completeness was assessed using BUSCO version 1.22 and the plantae dataset [137]. Gene functions presented here were

determined by BLASTp (e-value $\leq 1 \times 10^{-6}$) on the *P. vulgaris* v2.1 reference genome from genotype G19833 [18]. Homologs between BAT93 and JaloEEP558 were searched for by reciprocal BLASTp (e-value $\leq 1 \times 10^{-6}$) of all predicted genes, and keeping only genes having the same best hit after both reciprocal BLASTp searches and the same best hit after BLASTp on the *P. vulgaris* reference genome. The four QRLs to CBB described in a BAT93 x JaloEEP558 progeny [50] were delimited by using the sequence of restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers flanking these QRLs (Table S11), available at the PhaseolusGenes database (http://phaseolusgenes.bioinformatics.ucdavis.edu).

RNA-Seq experiments

In order to obtain tissues with homogeneous and synchronous plant cells interacting with bacteria, leaflets from the first trifoliate leaves at stage V1 were detached from the plant, and vacuum-infiltrated for 2 × 1 min into a bacterial suspension of CFBP6546R strain at 1×10^8 CFU.mL^{-1} diluted in sterile distilled water, or pure sterile distilled water as control. Infiltrated leaflets were maintained in Petri dishes by dipping the petiole in water agar (0.7%) and incubated at 28 °C/25 °C (day/night) with a photoperiod of 16 h. Fourty-eigth hours after inoculation, 10 disks were sampled with a 1.3 cm diameter borer and immediately frozen in liquid nitrogen. Frozen disks were ground using a ball mill for 30 s at 25 Hz. Total RNA was extracted with the TRIzol® Plus RNA Purification Kit (Ambion, Applied Biosystems, Courtaboeuf, France) according to manufacturer's recommendations, except that TRIzol® was used at 60 °C and that an additional DNase treatment was performed. The quantity and quality of total DNA-free RNA were evaluated using a NanoDropTM (Thermo Scientific, Wilmington, USA) and an ExperionTM chip (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Then, for each modality, RNA-Seq was performed on three independent biological replicates at the GeT-PlaGe core facility, INRAE Toulouse. RNA-Seq libraries have been prepared according to Illumina's protocols using the Illumina TruSeq Stranded mRNA sample prep kit to analyze mRNA. Briefly, mRNAs were selected using poly-T beads. Then, RNAs were fragmented to generate double stranded cDNAs and adaptators were ligated to be sequenced. Eleven cycles of PCR were applied to amplify libraries. Library quality was assessed using a Fragment Analyser and libraries were quantified by qPCR using the Kapa Library Quantification Kit. All libraries were pooled and the whole pool was loaded into two sequencing lanes. RNA-Seq experiments have been performed on an Illumina HiSeq3000 using a paired-end read length of 2 × 150 pb with the Illumina HiSeq3000 sequencing kits. Total reads were mapped on the annotated genome sequences of BAT93 or JaloEEP558 and counted using the glint software (http://lipm-bioinfo.toulouse.inra.fr/download/glint). Only best-scores were taken into account, with a minimal hit length of 40 bp, a maximum of 5 mismatches and no gap allowed. Ambiguous matches with the same best score were removed. Principal component analysis and a Pearson correlation matrix were performed with R, using the number of reads per genes within each sample.

Analysis of differentially-expressed genes

Differentially-expressed genes (DEGs) were determined using DeSeq2 with default normalization settings [138] and with adjusted p-value < 0.05 [139]. Three different $\log_2$FC thresholds were tested, at $|\log_2 FC| > 1$, 1.5, or 2.0. DEGs were grouped according to three expression patterns. First, the core transcriptome consisting of genes simultaneously induced or repressed in both genotypes. Then, the BAT93-specific and JaloEEP558-specific transcriptomes consisting of genes specifically induced or repressed in BAT93 or JaloEEP558, respectively. Each gene set was used to perform an enrichment test based on Gene Ontologies (GOs) using the Parametric Analysis of Gene set Enrichment (PAGE) available on AgriGO v2.0 (http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2) [59]. GO terms represented by a minimum of 10 genes and a False Discovery Rate (FDR) < 0.05 were considered significantly enriched. Enriched GO terms belonging to biological processes were summarized using REVIGO, a computational approach that summarizes long GO lists by reducing functional redundancies (http://revigo.irb.hr) [58]. Enriched GO terms from the three different $\log_2$FC thresholds were compared to each other, either by using all DEGs (Table S12). Consistency of enriched GO terms among the different $\log_2$FC tresholds was observed. Therefore, we used the intermediate $\log_2$FC threshold of 1.5 for all analyses. Functional annotations of DEGs were visualized using MapMan (http://mapman.gabipd.org) [140]. DEGs linked to hormone signaling were visualized on the pvu04075 pathway available on KEGG mapper [141] (https://www.genome.jp/kegg/mapper.html). Lists of DEGs associated with the cell wall or the metabolism of lipids were extracted using corresponding MapMan Bin codes. Transcription factors (TFs), kinase genes and RLKs used in this study were retrieved from the iTAK database (http://itak.feilab.net) [142]. The complete set of common bean NLRs was retrieved according to Richard et al. 2017a [143].

RT-qPCR assays

To validate RNA-Seq results, RT-qPCR assays were performed on 10 selected genes representing different patterns of induction or repression in both bean genotypes. For each sample, cDNAs were synthetized from the total RNA using oligo (dT)15 primer with the M-MLV reverse transcriptase

(Promega, Madison, WI, USA) according to manufacturer's recommendations. RT-qPCR primers were designed using Primer3 [144] and checked for the absence of self or cross dimerization using Netprimer (https://www.premierbiosoft.com/netprimer, Table S13). Specificity and efficiency of each primer pair were checked by RT-qPCR and melting curves on a serial dilution of pooled cDNAs from the sample set. All primers produced a single peak with an efficiency ranging between 90 and 100%. RT-qPCR were performed with the MESA BLUE qPCR 2X MasterMix Plus for SYBR kit (Eurogentec, Seraing, Belgium) in a thermocycler with the following cycle: denaturation at 95 °C for 5 min, then 40 cycles of denaturation at 95 °C for 15 s followed by annealing and extending at 60 °C for 40 s. Relative expression levels were calculated using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method for each gene and were normalized to the threshold cycle (Ct) values of the internal common bean reference genes *EF1-alpha* (Phvul.004G060000), *Actin 11* (Phvul.008G011000) and *Insulin-Degrading Enzyme* (*IDE,* Phvul.001G133200) [145]. For each modality, three technical replicates were made for each of the three biological replicates.

Supplementary information

Supplementary information accompanies this paper at https://doi.org/10.1186/s12864-020-06972-6.

Additional file 1: Figure S1 Statistical analysis of RNA-Seq data. Statistics were performed by using the total number of RNA-Seq reads mapped on the 20,787 homologs shared by BAT93 and JaloEEP558. Principal component analysis (**A**). Triangles and dots represent the barycenters of RNA-Seq data from BAT93 and JaloEEP558, respectively. Data from plants inoculated with H2O are in orange while data from plants inoculated with *Xanthomonas* strain CFBP6546R are in black. Pearson correlation matrix (**B**). Numbers represent the means of Pearson correlation coefficients calculated using three biological replicates per condition.

Additional file 2: Figure S2. Validation of RNA-Seq results by RT-qPCR analysis in BAT93 (**A**) and JaloEEP558 (**B**). Gene expression data were expressed according to the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method (Vandesompele et al. 2002) [145], relatively to three housekeeping genes: *Act11*, *EF1-α* and *IDE*, and to the value of water inoculated plants.

Additional file 3 Figure S3 Numbers of DEGs in the different families of transcription factors. The list of common bean transcription factors was retrieved from the iTAK database (http://itak.feilab.net, Zheng et al. 2016) [142]. The numbers of induced and repressed genes are represented by red and blue bars respectively, in the specific transcriptomes of BAT93 (solid) or JaloEEP558 (hatched). Only families with at least 10 DEGs were represented.

Additional file 4: Figure S4. KEGG orthology map for plant hormone signal transduction. The KEGG orthology maps (pvu04075) of BAT93 (**A**) and JaloEEP558 (**B**) highlight DEGs that were induced (red), repressed (blue), or both induced and repressed (green) 48 h after inoculation with *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*. The number of DEGs (colored numbers) and the average Log2FC (black numbers) are indicated above the boxes.

Additional file 5: Table S1. Number of genes shared among common bean genomes, as determined by reciprocal blastp (e-value <1E-6).

Additional file 6: Table S2. List of homologs shared by BAT93 and JaloEEP558.

Additional file 7: Table S3. List of DEGs in BAT93 and JaloEEP558 48 h after inoculation by *X. phaseoli* pv. phaseoli strain CFBP6546R.

Additional file 8: Table S4. Raw enrichment tests on the core, BAT93-specific or JaloEEP558-specific transcriptomes.

Additional file 9: Table S5. Enrichment tests on the core, BAT93-specific or JaloEEP558-specific transcriptomes, using induced or repressed DEGs separately.

Additional file 10: Table S6. List of enriched MapMan bins in the BAT93-specific and JaloEEP558-specific transcriptomes.

Additional file 11.

Additional file 12: Table S8. List of DEGs with |**Δ**log2FC| > 5.

Additional file 13: Table S9. List of DEGs with an inverse expression pattern between BAT93 and JaloEEP558.

Additional file 14: Table S10. List of DEGs in the four QRLs to CBB described in the progeny of BAT93xJaloEEP558 (Nodari et al., 1993) [50].

Additional file 15: Table S11. Genetic markers associated to the four QRLs to CBB described by Nodari et al. 1993 [the four QRLs to CBB described in the progeny of BAT93xJaloEEP558 (Nodari et al., 1993) [50].

Additional file 16: Table S12. Results of the enrichment tests according to the core, BAT93-specific or JaloEEP558-specific transcriptome and according to different log2FC threshold.

Additional file 17: Table S13. Primers used for RT-qPCR assays.

Abbreviations

CBB: Common bacterial blight of bean; RNA-Seq: RNA sequencing; TALE: Transcription activator-like effector; PAMP/MAMP: Pathogen–/microbe-associated molecular pattern; PRR: Pattern-recognition receptor; RLK: Receptor-like kinase; PTI: PAMP-triggered immunity; ETI: Effector-triggered immunity; *R* gene/protein: Resistance gene/protein; NLR: Nucleotide-binding leucine-rich repeat; MAPK: Mitogen-activated protein kinase; SA: Salicylic acid; JA: Jasmonic acid; PR: Pathogenesis-related; PCR: Polymerase chain reaction; EU: European Union; QRL: Quantitative resistance locus; cDNA-AFLP: CDNA-amplified fragment length polymorphism; qRT-PCR: Quantitative real-time PCR; DPI: Days post inoculation; DEG: Differentially-expressed gene; GO: Gene ontology; CDPK: Calcium-dependent protein kinase; CIPK: Calcineurin B-like protein-interacting protein kinase; TF: Transcription factor; AP2/ERF: APETALA2/ethylene response factor; bHLH: Basic Helix-Loop-Helix; HSP: Heat-shock protein; MLO: Mildew resistance locus; EDS1: ENHANCED DISEASE SUSCEPTIBILITY 1; PR1: PATHOGENESIS-RELATED 1; JAZ1: JASMONATE ZIM-domain 1; FAD8: Fatty acid desaturase 8; LOB: Lateral Organ Boundaries; PLAC8: Placenta-specific 8; SBP: S-ribonuclease binding protein; DAMP: Damage-associated molecular pattern; FDR: False Discovery Rate; ETR: ETHYLENE RESPONSE; CIAT: Center for Tropical Agriculture; TSA: Trypticase Soy Agar; RFLP: Restriction fragment length polymorphism; PAGE: Parametric Analysis of Gene set Enrichment; CFU: Colony-forming units; gFM: Grams of fresh materials

Acknowledgements

The authors thank Céline Rousseau from the PHENOTIC platform for her help in the analysis of chlorophyll fluorescence and Muriel Bahut from the ANAN platform for her help in performing RT-qPCR assays. The authors also thank the French Network on Xanthomonads (FNX) (https://www.reseau-xantho.org/) for recurrent scientific exchange within the framework of the ANR CROpTAL project and particularly Lionel Gagnevin for critical reading of the manuscript. Bacterial strain preservation and supply is ensured by the CIRM-CFBP (Beaucouzé, INRA, France; https://www6.inrae.fr/cirm_eng/CFBP-Plant-Associated-Bacteria).

Authors' contributions

JF, MR, MAJ and NWGC conceived and designed the experiments. JF, MR, RS, AP and NWGC performed the experiments. JF, MR, SC, SP, MB and NWGC analyzed the data. JF, MAJ and NWGC wrote the manuscript. All authors have read and approved the manuscript.

Funding

This study was supported by the French National Research Agency CROpTAL project to NWGC (ANR-14-CE19–0002-04). JF is funded by a PhD grant (BRUTAL project) from the French National Research Institute for Agriculture

(INRAE) and the region Pays de la Loire, France. MR was funded by a PhD grant (X-HOT project) from Angers-Loire Metropole, France. This work was performed in collaboration with the GeT core facility, Toulouse, France (http://get.genotoul.fr), and was supported by France Génomique National infrastructure, funded as part of "Investissement d'avenir" program managed by Agence Nationale pour la Recherche (contract ANR-10-INBS-09). The funding bodies did not participate in any of the study design, data collection and analysis, or writing the manuscript.

Availability of data and materials

Whole genome assemblies generated for this study have been submitted to GenBank under accession numbers JAAIFG000000000 (BAT93) and JAAIFH000000000 (JaloEEP58). Sequences and annotations are available at https://bbric-pipelines.toulouse.inra.fr/myGenomeBrowser?public=1. The raw RNA-Seq data and metadata have been submitted to the Gene Expression Omnibus under the accession number GSE155080 (SRA: SRP273448).

Ethics approval and consent to participate

Not applicable.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author details

[1]IRHS, INRAE, AGROCAMPUS OUEST, Université d'Angers, SFR4207 QUASAV, 42, rue Georges Morel, F-49071 Beaucouzé, France. [2]CNRS, UMR 2594, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), F-31326 Castanet-Tolosan, France. [3]INRAE, US 1426, GeT-PlaGe, Genotoul, Castanet-Tolosan, France.

Received: 24 February 2020 Accepted: 5 August 2020
Published online: 18 August 2020

References

1. Jones JDG, Dangl L. The plant immune system. Nature. 2006;444:323–9. https://doi.org/10.1038/nature05286.
2. Dodds PN, Rathjen JP. Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions. Nat Rev Genet. 2010;11:539–48. https://doi.org/10.1038/nrg2812.
3. Boller T, Felix G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. Annu Rev Plant Biol. 2009;60:379–406. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105346.
4. Zipfel C. Plant pattern-recognition receptors. Trends Immunol. 2014;35:345–51. https://doi.org/10.1016/j.it.2014.05.004.
5. Böhm H, Albert I, Fan L, Reinhard A, Nürnberger T. Immune receptor complexes at the plant cell surface. Curr Opin Plant Biol. 2014;20:47–54. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.04.007.
6. Macho AP, Zipfel C. Plant PRRs and the activation of innate immune signaling. Mol Cell. 2014;54:263–72. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.03.028.
7. Feng F, Zhou JM. Plant-bacterial pathogen interactions mediated by type III effectors. Curr Opin Plant Biol. 2012;15:469–76. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2012.03.004.
8. Büttner D. Behind the lines-actions of bacterial type III effector proteins in plant cells. FEMS Microbiol Rev. 2016;40:894–937. https://doi.org/10.1093/femsre/fuw026.
9. Izoré T, Job V, Dessen A. Biogenesis, regulation, and targeting of the type III secretion system. Structure. 2011;19:603–12. https://doi.org/10.1016/j.str.2011.03.015.
10. Galán JE, Collmer A. Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells. Science. 1999;284:1322–8. https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1322.
11. Cui H, Tsuda K, Parker JE. Effector-triggered immunity: from pathogen perception to robust defense. Annu Rev Plant Biol. 2015;66:487–511. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040012.
12. Bigeard J, Colcombet J, Hirt H. Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). Mol Plant. 2015;8:521–39. https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.022.
13. Bari R, Jones JDG. Role of plant hormones in plant defence responses. Plant Mol Biol. 2009;69:473–88. https://doi.org/10.1007/s11103-008-9435-0.
14. Pieterse CMJ, Van der Does D, Zamioudis C, Leon-Reyes A, Van Wees SCM. Hormonal modulation of plant immunity. Annu Rev Cell Dev Biol. 2012;28:489–521. https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055.
15. Malinovsky FG, Fangel JU, Willats WGT. The role of the cell wall in plant immunity. Front Plant Sci. 2014;5:178. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00178.
16. Broughton WJ, Hernandez G, Blair M, Beebe S, Gepts P, Vanderleyden J. Beans (Phaseolus spp.) - model food legumes. Plant Soil. 2003;252:55–128. https://doi.org/10.1023/A:1024146710611.
17. Foyer CH, Lam HM, Nguyen HT, Siddique KHM, Varshney RK, Colmer TD, et al. Neglecting legumes has compromised human health and sustainable food production. Nat Plants. 2016;2:16112. https://doi.org/10.1038/nplants.2016.112.
18. Schmutz J, McClean PE, Mamidi S, Wu GA, Cannon SB, Grimwood J, et al. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. Nat Genet. 2014;46:707–13. https://doi.org/10.1038/ng.3008.
19. Delgado-Salinas A, Bonet A, Gepts P. The wild relative of *Phaseolus vulgaris* in middle america; 1988. https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004.
20. Rodríguez De Luque JJ, Creamer B. Major constraints and trends for common bean production and commercialization; establishing priorities for future research. Agron Colomb. 2014;32:423–31. https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v32n3.46052.
21. Singh SP, Miklas PN. Breeding common bean for resistance to common blight: a review. Crop Sci. 2015;55:971–84. https://doi.org/10.2135/cropsci2014.07.0502.
22. EFSA Panel on Plant Health (PLH). Scientific Opinion on the pest categorisation of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and Xanthomonas fuscans subsp. fuscans. EFSA J. 2014;12:3856. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3856.
23. Belete T, Bastas K. Common bacterial blight (Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli) of beans with special focus on Ethiopian condition. J Plant Pathol Microbiol. 2017;8:403. https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000403.
24. Vauterin L, Hoste B, Kersters K, Swings J. Reclassification of Xanthomonas. Int J Syst Bacteriol. 1995;45:472–89. https://doi.org/10.1099/00207713-45-3-472.
25. Constantin EC, Cleenwerck I, Maes M, Baeyen S, Van Malderghem C, De Vos P, et al. Genetic characterization of strains named as Xanthomonas axonopodis pv. dieffenbachiae leads to a taxonomic revision of the X. axonopodis species complex. Plant Pathol. 2016;65:792–806. https://doi.org/10.1111/ppa.12461.
26. Oren A, Garrity GM. Notification of changes in taxonomic opinion previously published outside the IJSEM. Int J Syst Evol Microbiol. 2017;67:2081–6. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002071.
27. Rademaker JLW, Louws FJ, Schultz MH, Rossbach U, Vauterin L, Swings J, et al. A comprehensive species to strain taxonomic framework for Xanthomonas. Phytopathology. 2005;95:1098–111. https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-1098.
28. Karavina C, Mandumbu R, Parwada C, Tibugari H. A review of the occurrence, biology and management of common bacterial blight. J Agric Technol. 2011;7:1459–74.
29. Audy P, Laroche A, Saindon G, Huang HC, Gilbertson RL. Detection of the bean common blight bacteria, Xanthomonas campestris pv. phaseoli and X. c.phaseoli var. fuscans, using the polymerase chain reaction. Phytopathology. 1994;84:1185–92. https://doi.org/10.1094/phyto-84-1185.
30. Grimault V, Olivier V, Rolland M, Darrasse A, Jacques M-A. Detection of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli var. fuscans on *Phaseolus vulgaris* (bean). International Rules Seed Testing Annexe to Chapter 7 : Seed Heal Testing Methods; 2014. p. 7–021–1-20. hal-01134886.
31. Bourguet D, Guillemaud T. The hidden and external costs of pesticide use. In: Lichtfouse E, editor. Sustainable Agriculture Reviews; 2016. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7_2.
32. Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ. Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. Science. 2013;341:746–51. https://doi.org/10.1126/science.1236011.
33. Alladassi BME, Nkalubo ST, Mukankusi C, Mwale ES, Gibson P, Edema R, et al. Inheritance of resistance to common bacterial blight in four selected common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. J Plant Breed Crop Sci. 2017;9:71–8. https://doi.org/10.5897/JPBCS2017.0644.
34. Opio AF, Allen DJ, Teri JM. Pathogenic variation in Xanthomonas campestris pv. phaseoli, the causal agent of common bacterial blight in Phaseolus beans. Plant Pathol. 1996;45:1126–33. https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1996.d01-187.x.

35. Viteri DM, Singh SP. Response of 21 common beans of diverse origins to two strains of the common bacterial blight pathogen, Xanthomonas campestris pv. phaseoli. Euphytica. 2014;200:379–88. https://doi.org/10.1007/s10681-014-1161-x.
36. Miklas PN, Beaver JS, Grafton KF, Freytag GF. Registration of TARS VCI-4B multiple disease resistant dry bean Germplasm. Crop Sci. 1994;34:1415. https://doi.org/10.2135/cropsci1994.0011183x003400050065x.
37. Parker JPK. (1985) Interspecific transfer of common bacterial blight resistance from *Phaseolus acutifolius* a gray to *Phaseolus vulgaris* L. M.Sc. thesis, Univ Guelph, Guelph.
38. Jung G, Skroch PW, Coyne DP, Nienhuis J, Arnaud-Santana E, Ariyarathne HM, et al. Molecular-marker-based genetic analysis of tepary bean-derived common bacterial blight resistance in different developmental stages of common bean. J Am Soc Horticult Sci. 1997;122:329–37. https://doi.org/10.21273/jashs.122.3.329.
39. Pedraza García F, Gallego GJ, Beebe SE, Tohme M. J. Marcadores SCAR y RAPD para la resitencia a la bacteriosis comun (CBB). In: Singh SP, Voysest O (eds) Taller de mejoramiento de frijol para el Siglo XXI: bases para una estrategia para America Latina. CIAT, Cali, CO. 1997;53:130–134. doi: https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004.
40. Yu K, Park SJ, Poysa V. Marker-assisted selection of common beans for resistance to common bacterial blight: efficacy and economics. Plant Breed. 2000;119:411–5. https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2000.00514.x.
41. Yu K, Park SJ, Zhang B, Haffner M, Poysa V. An SSR marker in the nitrate reductase gene of common bean is tightly linked to a major gene conferring resistance to common bacterial blight. Euphytica. 2004;138:89–95. https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000047077.75285.60.
42. Park SO, Coyne DP, Mutlu N, Jung G, Steadman JR. Confirmation of molecular markers and flower color associated with QTL for resistance to common bacterial blight in common beans. J Am Soc Hortic Sci. 1999;124:519–26. https://doi.org/10.21273/jashs.124.5.519.
43. Miklas PN, Delorme R, Stone V, Daly MJ, Stavely JR, Steadman JR, et al. Bacterial, fungal, and viral disease resistance loci mapped in a recombinant inbred common bean population ('Dorado'/XAN 176). J Am Soc Hortic Sci. 2000;125:476–81. https://doi.org/10.21273/jashs.125.4.476.
44. Miklas PN, Coyne DP, Grafton KF, Mutlu N, Reiser J, Lindgren DT, et al. A major QTL for common bacterial blight resistance derives from the common bean great northern landrace cultivar Montana no. 5. Euphytica. 2003;131:137–46. https://doi.org/10.1023/A:1023064814531.
45. Kelly JD, Gepts P, Miklas PN, Coyne DP. Tagging and mapping of genes and QTL and molecular marker-assisted selection for traits of economic importance in bean and cowpea. F Crop Res. 2003;82:135–54. https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00034-0.
46. Miklas PN, Kelly JD, Beebe SE, Blair MW. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding. Euphytica. 2006;147:105–31. https://doi.org/10.1007/s10681-006-4600-5.
47. Shi C, Chaudhary S, Yu K, Park SJ, Navabi A, McClean PE. Identification of candidate genes associated with CBB resistance in common bean HR45 (*Phaseolus vulgaris* L.) using cDNA-AFLP. Mol Biol Rep. 2011;38:75–81. https://doi.org/10.1007/s11033-010-0079-1.
48. Cooper DM. (2015) Identification and characterization of common bacterial blight resistance genes in the resistant common bean (*Phaseolus vulgaris*) variety OAC Rex. M.Sc. thesis, Univ Guelph, Guelph.
49. Wu J, Zhu J, Wang L, Wang S. Genome-wide association study identifies NBS-LRR-encoding genes related with anthracnose and common bacterial blight in the common bean. Front Plant Sci. 2017;8:1398. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01398.
50. Nodari RO, Tsai SM, Guzmán P, Gilbertson RL, Gepts P. Toward an integrated linkage map of common bean. III mapping genetic factors controlling host-bacteria interactions. Genetics. 1993;134:341–50.
51. Darsonval A, Darrasse A, Durand K, Bureau C, Cesbron S, Jacques M-A. Adhesion and fitness in the bean Phyllosphere and transmission to seed of Xanthomonas fuscans subsp. fuscans. Mol Plant-Microbe Interact. 2009;22:747–57. https://doi.org/10.1094/mpmi-22-6-0747.
52. Rousseau C, Hunault G, Gaillard S, Bourbeillon J, Montiel G, Simier P, et al. Phenoplant: a web resource for the exploration of large chlorophyll fluorescence image datasets. Plant Methods. 2015;11:24. https://doi.org/10.1186/s13007-015-0068-4.
53. Vlasova A, Capella-Gutiérrez S, Rendón-Anaya M, Hernández-Oñate M, Minoche AE, Erb I, et al. Genome and transcriptome analysis of the Mesoamerican common bean and the role of gene duplications in establishing tissue and temporal specialization of genes. Genome Biol. 2016;17:32. https://doi.org/10.1186/s13059-016-0883-6.
54. Schwartz AR, Morbitzer R, Lahaye T, Staskawicz BJ. TALE-induced bHLH transcription factors that activate a pectate lyase contribute to water soaking in bacterial spot of tomato. Proc Natl Acad Sci. 2017;114:E897–903. https://doi.org/10.1073/pnas.1620407114.
55. Wilkins KE, Booher NJ, Wang L, Bogdanove AJ. TAL effectors and activation of predicted host targets distinguish Asian from African strains of the rice pathogen Xanthomonas oryzae pv oryzicola while strict conservation suggests universal importance of five TAL effectors. Front Plant Sci. 2015;6:536. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00536.
56. Cernadas RA, Camillo LR, Benedetti CE. Transcriptional analysis of the sweet orange interaction with the citrus canker pathogens Xanthomonas axonopodis pv. citri and Xanthomonas axonopodis pv. aurantifolii. Mol Plant Pathol. 2008;9:609–31. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00486.x.
57. Hu Y, Zhang J, Jia H, Sosso D, Li T, Frommer WB, et al. Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. Proc Natl Acad Sci. 2014;111:E521–9. https://doi.org/10.1073/pnas.1313271111.
58. Supek F, Bošnjak M, Škunca N, Šmuc T. Revigo summarizes and visualizes long lists of gene ontology terms. PLoS One. 2011;6:e21800. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021800.
59. Tian T, Liu Y, Yan H, You Q, Yi X, Du Z, et al. AgriGO v2.0: a GO analysis toolkit for the agricultural community, 2017 update. Nucleic Acids Res. 2017;45:W122–9. https://doi.org/10.1093/nar/gkx382.
60. Mindrebo J, Nartey C, Seto Y, Burkart M, Noel J. Unveiling the functional diversity of the alpha-beta hydrolase fold in plants. Curr Opin Struct Biol. 2016;41:233–46. https://doi.org/10.1016/j.sbi.2016.08.005.
61. Canonne J, Froidure-Nicolas S, Rivas S. Phospholipases in action during plant defense signaling. Plant Signal Behav. 2011;6:13–8. https://doi.org/10.4161/psb.6.1.14037.
62. Kachroo P, Shanklin J, Shah J, Whittle EJ, Klessig DF. A fatty acid desaturase modulates the activation of defense signaling pathways in plants. Proc Natl Acad Sci. 2001;98:9448–53. https://doi.org/10.1073/pnas.151258398.
63. Davies PJ. Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action!. Springer, Dordrecht. Copyright Information: Springer Science+Business Media B.V. 2010. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2686-7.
64. Los DA, Mironov KS, Allakhverdiev SI. Regulatory role of membrane fluidity in gene expression and physiological functions. Photosynth Res. 2013;116:489–509. https://doi.org/10.1007/s11120-013-9823-4.
65. Van Loon LC, Van Strien EA. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiol Mol Plant Pathol. 1999;55:85–97. https://doi.org/10.1006/pmpp.1999.0213.
66. Argueso CT, Ferreira FJ, Epple P, To JPC, Hutchison CE, Schaller GE, et al. Two-component elements mediate interactions between cytokinin and salicylic acid in plant immunity. PLoS Genet. 2012;8. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002448.
67. Hackbusch J, Richter K, Müller J, Salamini F, Uhrig JF. A central role of Arabidopsis thaliana ovate family proteins in networking and subcellular localization of 3-aa loop extension homeodomain proteins. Proc Natl Acad Sci. 2005;102:4908–12. https://doi.org/10.1073/pnas.0501181102.
68. Wang S, Chang Y, Guo J, Zeng Q, Ellis BE, Chen JG. Arabidopsis ovate family proteins, a novel transcriptional repressor family, control multiple aspects of plant growth and development. PLoS One. 2011;6:e23896. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023896.
69. Wang S, Chang Y, Ellis B. Overview of OVATE FAMILY PROTEINS, a novel class of plant-specific growth regulators. Front Plant Sci. 2016;7:417. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00417.
70. Blair MW, Cortés AJ, Farmer AD, Huang W, Ambachew D, Varma Penmetsa R, et al. Uneven recombination rate and linkage disequilibrium across a reference SNP map for common bean (Phaseolus vulgaris L.). PLoS One. 2018;13:e0189597. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189597.
71. Chen NWG, Sévignac M, Thareau V, Magdelenat G, David P, Ashfield T, et al. Specific resistances against Pseudomonas syringae effectors AvrB and AvrRpm1 have evolved differently in common bean (Phaseolus vulgaris), soybean (Glycine max), and Arabidopsis thaliana. New Phytol. 2010;187:941–56. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03337.x.
72. Freyre R, Skroch PW, Geffroy V, Adam-Blondon AF, Shirmohamadali A, Johnson WC, et al. Towards an integrated linkage map of common bean. 4. Development of a core linkage map and alignment of RFLP maps. Theor Appl Genet. 1998;97:847–56. https://doi.org/10.1007/s001220050964.

73. Geffroy V, Sévignac M, De Oliveira JCF, Fouilloux G, Skroch P, Thoquet P, et al. Inheritance of partial resistance against Colletotrichum lindemuthianum in Phaseolus vulgaris and co-localization of quantitative trait loci with genes involved in specific resistance. Mol Plant-Microbe Interact. 2000;13:287–96. https://doi.org/10.1094/MPMI.2000.13.3.287.
74. Geffroy V, Sévignac M, Billant P, Dron M, Langin T. Resistance to Colletotrichum lindemuthianum in Phaseolus vulgaris: a case study for mapping two independent genes. Theor Appl Genet. 2008;116:407–15. https://doi.org/10.1007/s00122-007-0678-y.
75. Grisi MCM, Blair MW, Gepts P, Brondani C, Pereira PAA, Brondani RPV. Genetic mapping of a new set of microsatellite markers in a reference common bean (Phaseolus vulgaris) population BAT93 x Jalo EEP558. Genet Mol Res. 2007;6:691–706.
76. Heilig JA, Beaver JS, Wright EM, Song Q, Kelly JD. QTL analysis of symbiotic nitrogen fixation in a black bean population. Crop Sci. 2017;57:118–29. https://doi.org/10.2135/cropsci2016.05.0348.
77. McClean PE, Lee RK, Otto C, Gepts P, Bassett MJ. Molecular and phenotypic mapping of genes controlling seed coat pattern and color in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J Hered. 2002;39:148–52. https://doi.org/10.1093/jhered/93.2.148.
78. Nodari RO, Koinange EMK, Kelly JD, Gepts P. Towards an integrated linkage map of common bean - 1. Development of genomic DNA probes and levels of restriction fragment length polymorphism. Theor Appl Genet. 1992;84:186–92. https://doi.org/10.1007/BF00223999.
79. Ballester A-R, Norelli J, Burchard E, Abdelfattah A, Levin E, González-Candelas L, et al. Transcriptomic response of resistant (PI613981–Malus sieversii) and susceptible ("Royal Gala") genotypes of apple to blue Mold (Penicillium expansum) infection. Front Plant Sci. 2017;8:1981. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01981.
80. Jain S, Chittem K, Brueggeman R, Osorno JM, Richards J, Nelson BD, et al. Comparative transcriptome analysis of resistant and susceptible common bean genotypes in response to soybean cyst nematode infection. PLoS One. 2016;11:e0159338. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159338.
81. Padder BA, Kamfwa K, Awale HE, Kelly JD. Transcriptome profiling of the Phaseolus vulgaris - Colletotrichum lindemuthianum Pathosystem. PLoS One. 2016;11:e0165823. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165823.
82. Rubio M, Ballester AR, Olivares PM, Castro de Moura M, Dicenta F, Martínez-Gómez P. Gene expression analysis of plum pox virus (Sharka) susceptibility/resistance in apricot (Prunus armeniaca L.). PLoS One. 2015;10:e0144670. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144670.
83. Zeng W, Sun Z, Cai Z, Chen H, Lai Z, Yang S, et al. Comparative transcriptome analysis of soybean response to bean pyralid larvae. BMC Genomics. 2017;18:871. https://doi.org/10.1186/s12864-017-4256-7.
84. Tsai TM, Chen YR, Kao TW, Tsay WS, Wu CP, Huang DD, et al. PaCDPK1, a gene encoding calcium-dependent protein kinase from orchid, Phalaenopsis amabilis, is induced by cold, wounding, and pathogen challenge. Plant Cell Rep. 2007;26:1899–908. https://doi.org/10.1007/s00299-007-0389-5.
85. Murillo I, Jaeck E, Cordero MJ, San SB. Transcriptional activation of a maize calcium-dependent protein kinase gene in response to fungal elicitors and infection. Plant Mol Biol. 2001;45:145–58. https://doi.org/10.1023/A:1006430707075.
86. Lecourieux D, Raneva R, Pugin A. Calcium in plant defence-signalling pathways. New Phytol. 2006;171:249–69. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01777.x.
87. Seybold H, Trempel F, Ranf S, Scheel D, Romeis T, Lee J. Ca2+ signalling in plant immune response: from pattern recognition receptors to Ca2+ decoding mechanisms. New Phytol. 2014;204:782–90. https://doi.org/10.1111/nph.13031.
88. Büttner D, Bonas U. Regulation and secretion of Xanthomonas virulence factors. FEMS Microbiol Rev. 2009;34:107–33. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00192.x.
89. Bürger M, Chory J. Stressed out about hormones: how plants orchestrate immunity. Cell Host Microbe. 2019;26:163–72. https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.07.006.
90. Ben-David A, Bashan Y, Okon Y. Ethylene production in pepper (Capsicum annuum) leaves infected with Xanthomonas campestris pv. vesicatoria. Physiol Mol Plant Pathol. 1986;29:305–16. https://doi.org/10.1016/S0048-4059(86)80047-9.
91. Dutta S, Biggs RH, Biggs RH. Regulation of ethylene biosynthesis in citrus leaves infected with Xanthomonas campestris pv. citri. Physiol Plant. 1991:225–31. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb00085.x.
92. Lund ST, Stall RE, Klee HJ. Ethylene regulates the susceptible response to pathogen infection in tomato. Am Soc Plant Physiol Ethyl. 1998:371–82. https://doi.org/10.1105/tpc.10.3.371.
93. Gervasi F, Ferrante P, Dettori MT, Scortichini M, Verde I. Transcriptome reprogramming of resistant and susceptible peach genotypes during Xanthomonas arboricola pv. pruni early leaf infection. PLoS One. 2018;13:1–21. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196590.
94. Zou J, Rodriguez-Zas S, Aldea M, Li M, Zhu J, Gonzalez DO, et al. Expression profiling soybean response to pseudomonas syringae reveals new defense-related genes and rapid HR-specific downregulation of photosynthesis. Mol Plant-Microbe Interact. 2005;18:1161–74. https://doi.org/10.1094/mpmi-18-1161.
95. Lewis LA, Polanski K, de Torres-Zabala M, Jayaraman S, Bowden L, Moore J, et al. Transcriptional dynamics driving MAMP-triggered immunity and pathogen effector-mediated immunosuppression in Arabidopsis leaves following infection with Pseudomonas syringae pv tomato DC3000. Plant Cell. 2015;27:3038–64. https://doi.org/10.1105/tpc.15.00471.
96. Lopez C, Soto M, Restrepo S, Piégu B, Cooke R, Delseny M, et al. Gene expression profile in response to Xanthomonas axonopodis pv. manihotis infection in cassava using a cDNA microarray. Plant Mol Biol. 2005;57:393–410. https://doi.org/10.1007/s11103-004-7819-3.
97. Bilgin DD, Zavala JA, Zhu J, Clough SJ, Ort DR, Delucia EH. Biotic stress globally downregulates photosynthesis genes. Plant Cell Environ. 2010;33:1597–613. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02167.x.
98. Berger S, Sinha AK, Roitsch T. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. J Exp Bot. 2007;58:4019–26. https://doi.org/10.1093/jxb/erm298REVIEW.
99. Bonfig KB, Schreiber U, Gabler A, Roitsch T, Berger S. Infection with virulent and avirulent P. syringae strains differentially affects photosynthesis and sink metabolism in Arabidopsis leaves. Planta. 2006;225:1–12. https://doi.org/10.1007/s00425-006-0303-3.
100. Scharte J, Schön H, Weis E. Photosynthesis and carbohydrate metabolism in tobacco leaves during an incompatible interaction with Phytophthora nicotianae. Plant Cell Environ. 2005;28:1421–35. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01380.x.
101. Swarbrick PJ, Schulze-Lefert P, Scholes JD. Metabolic consequences of susceptibility and resistance (race-specific and broad-spectrum) in barley leaves challenged with powdery mildew. Plant Cell Environ. 2006;29:1061–76. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01472.x.
102. Kato Y, Miura E, Ido K, Ifuku K, Sakamoto W. The variegated mutants lacking chloroplastic FtsHs are defective in D1 degradation and accumulate reactive oxygen species. Plant Physiol. 2009;151:1790–801. https://doi.org/10.1104/pp.109.146589.
103. Garavaglia BS, Thomas L, Gottig N, Zimaro T, Garofalo CG, Gehring C, et al. Shedding light on the role of photosynthesis in pathogen colonization and host defense. Commun Integr Biol. 2010;3:382–4. https://doi.org/10.4161/cib.3.4.12029.
104. Choi HW, Klessig DF. DAMPs, MAMPs, and NAMPs in plant innate immunity. BMC Plant Biol. 2016;16:232. https://doi.org/10.1186/s12870-016-0921-2.
105. Han Y, Zhu Q, Zhang Z, Meng K, Hou Y, Ban Q, et al. Analysis of xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase (XTH) genes and diverse roles of isoenzymes during persimmon fruit development and postharvest softening. PLoS One. 2015;10:e0123668. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123668.
106. Cosgrove DJ. Plant expansins: diversity and interactions with plant cell walls. Curr Opin Plant Biol. 2015;25:162–72. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.05.014.
107. Cosgrove DJ. Growth of the plant cell wall. Nat Rev Mol Cell Biol. 2005;6:850–61. https://doi.org/10.1038/nrm1746.
108. Majer C, Hochholdinger F. Defining the boundaries: structure and function of LOB domain proteins. Trends Plant Sci. 2011;16:47–52. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.09.009.
109. Grimplet J, Pimentel D, Agudelo-Romero P, Martinez-Zapater JM, Fortes AM. The LATERAL ORGAN BOUNDARIES domain gene family in grapevine: genome-wide characterization and expression analyses during developmental processes and stress responses. Sci Rep. 2017;7:15968. https://doi.org/10.1038/s41598-017-16240-5.
110. Springer P. Transcription factors expressed in lateral organ boundaries: identification of downstream targets. Univ North Texas Libr UNT Digit Libr. 2010;10:1-11.
111. David P, Chen NWG, Pedrosa-Harand A, Thareau V, Sevignac M, Cannon SB, et al. A nomadic subtelomeric disease resistance gene cluster in common bean. Plant Physiol. 2009;151:1048–65. https://doi.org/10.1104/pp.109.142109.

112. Meziadi C, Richard MMS, Derquennes A, Thareau V, Blanchet S, Gratias A, et al. Development of molecular markers linked to disease resistance genes in common bean based on whole genome sequence. Plant Sci. 2016;242: 351–7. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.09.006.
113. Richard MMS, Thareau V, Chen NWG, Meziadi C, Pflieger S, Geffroy V. (2017) What is present at common bean subtelomeres? Large resistance gene clusters, knobs and Khipu satellite DNA. In: Pérez de la Vega M., Santalla M., Marsolais F. (eds). doi: https://doi.org/10.1093/dnares/dsx046.
114. Chen NWG, Thareau V, Ribeiro T, Magdelenat G, Ashfield T, Innes RW, et al. Common bean subtelomeres are hot spots of recombination and favor resistance gene evolution. Front Plant Sci. 2018;9:1–15. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01185.
115. Boch J, Bonas U. Xanthomonas AvrBs3 family-type III effectors: discovery and function. Annu Rev Phytopathol. 2010;48:419–36. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081936.
116. Ruh M, Briand M, Bonneau S, Jacques M, Chen NWG. Xanthomonas adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. BMC Genomics. 2017;18:1–18. https://doi.org/10.1186/s12864-017-4087-6.
117. Boch J, Bonas U, Lahaye T. TAL effectors - pathogen strategies and plant resistance engineering. New Phytol. 2014;204:823–32. https://doi.org/10.1111/nph.13015.
118. Chen L. SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. New Phytol. 2014;201:1150–5. https://doi.org/10.1111/nph.12445.
119. Chen L, Hou B, Lalonde S, Takanaga H, Hartung ML, Qu X, et al. Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. Nature. 2010;468:527–32. https://doi.org/10.1038/nature09606.
120. Chen L, Qu X, Hou B, Sosso D, Osorio S, Fernie AR, et al. Sucrose efflux mediated by SWEET proteins as a key step for phloem transport. Science. 2012;335:207–11. https://doi.org/10.1126/science.1213351.
121. Zhou J, Peng Z, Long J, Sosso D, Liu B, Eom JS, et al. Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. Plant J. 2015;82:632–43. https://doi.org/10.1111/tpj.12838.
122. Yu Y, Streubel J, Balzergue S, Champion A, Boch J, Koebnik R, et al. Colonization of rice leaf blades by an African strain of Xanthomonas oryzae pv. oryzae depends on a new TAL effector that induces the rice Nodulin–3 Os11N3 gene. Mol Plant-Microbe Interact. 2011;24:1102–13. https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254.
123. Yang B, White FF. Diverse members of the AvrBs3/PthA family of type III effectors are major virulence determinants in bacterial blight disease of rice. Mol Plant-Microbe Interact. 2004;17:1192–200. https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.11.1192.
124. Yang B, Sugio A, White FF. Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. Proc Natl Acad Sci. 2006;103:10503–8. https://doi.org/10.1073/pnas.0604088103.
125. Antony G, Zhou J, Huang S, Li T, Liu B, White F, et al. Rice xa13 recessive resistance to bacterial blight is defeated by induction of the disease susceptibility gene Os-11N3. Plant Cell. 2010;22:3864–76. https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964.
126. Römer P, Recht S, Strauß T, Elsaesser J, Schornack S, Boch J, et al. Promoter elements of rice susceptibility genes are bound and activated by specific TAL effectors from the bacterial blight pathogen, Xanthomonas oryzae pv. oryzae. New Phytol. 2010;187:1048–57. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03217.x.
127. Streubel J, Pesce C, Hutin M, Koebnik R, Boch J, Szurek B. Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to Xanthomonas oryzae pv. oryzae. New Phytol. 2013;200:808–19. https://doi.org/10.1111/nph.12411.
128. Cohn M, Bart RS, Shybut M, Dahlbeck D, Gomez M, Morbitzer R, et al. Xanthomonas axonopodis virulence is promoted by a transcription activator-like effector-mediated induction of a SWEET sugar transporter in cassava. Mol Plant-Microbe Interact. 2014;27:1186–98. https://doi.org/10.1094/MPMI-06-14-0161-R.
129. Cox KL, Meng F, Wilkins KE, Li F, Wang P, Booher NJ, et al. TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. Nat Commun. 2017;24:15588. https://doi.org/10.1038/ncomms15588.
130. Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, Carpenter SCD, Yu Y, Wang L, et al. Functional analysis of African Xanthomonas oryzae pv . oryzae TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf light of rice. PLoS Pathog. 2018;14:e1007092.
131. Kay S, Hahn S, Marois E, Hause G, Bonas U. A bacterial effector acts as a plant transcription factor and induces a cell size regulator. Science. 2007; 318:648–51. https://doi.org/10.1126/science.1144956.
132. Al-Saadi A, Reddy JD, Duan YP, Brunings AM, Yuan Q, Gabriel DW. All five host-range variants of Xanthomonas citri carry one pthA homolog with 17.5 repeats that determines pathogenicity on citrus, but none determine host-range variation. Mol Plant-Microbe Interact. 2007;20:934–43. https://doi.org/10.1094/MPMI-20-8-0934.
133. Li Z, Zou L, Ye G, Xiong L, Ji Z, Zakria M, et al. A potential disease susceptibility gene CsLOB of citrus is targeted by a major virulence effector PthA of xanthomonas citri subsp. citri. Mol Plant. 2014;7:912–5. https://doi.org/10.1093/mp/sst176.
134. Rousseau C, Belin E, Bove E, Rousseau D, Fabre F, Berruyer R, et al. High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. Plant Methods. 2013;9:17. https://doi.org/10.1186/1746-4811-9-17.
135. Sallet E, Gouzy J, Schiex T. EuGene: An Automated Integrative Gene Finder for Eukaryotes and Prokaryotes. Methods Mol Biol. 2019;1962:97-120. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9173-0_6.
136. Schmutz J, Cannon SB, Schlueter J, Ma J, Mitros T, Nelson W, et al. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. Nature. 2010;463:178–83. https://doi.org/10.1038/ng.3008.
137. Seppey M, Manni M, Zdobnov EM. BUSCO: assessing genome assembly and annotation completeness. Methods Mol Biol. 1962;2019:227–45. https://doi.org/10.7551/mitpress/7458.003.0021.
138. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome Biol. 2014;15:550. https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8.
139. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. J R Stat Soc Ser B (Methodological). 1995;57:289–300. https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x.
140. Thimm O, Bläsing O, Gibon Y, Nagel A, Meyer S, Krüger P, et al. MAPMAN: a user-driven tool to display genomics data sets onto diagrams of metabolic pathways and other biological processes. Plant J. 2004;37:914–39. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02016.x.
141. Kanehisa M, Sato Y. KEGG mapper for inferring cellular functions from protein sequences. Protein Sci. 2020;29:28–35. https://doi.org/10.1002/pro.3711.
142. Zheng Y, Jiao C, Sun H, Rosli HG, Pombo MA, Zhang P, et al. iTAK: a program for genome-wide prediction and classification of plant transcription factors, transcriptional regulators, and protein kinases. Mol Plant. 2016;9:1667–70. https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.09.014.
143. Richard MMS, Gratias A, Thareau V, Do KK, Balzergue S, Joets J, et al. Genomic and epigenomic immunity in common bean: the unusual features of NB-LRR gene family. DNA Res. 2017;0:1–12. https://doi.org/10.1093/dnares/dsx046.
144. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, et al. Primer3-new capabilities and interfaces. Nucleic Acids Res. 2012;40:e115. https://doi.org/10.1093/nar/gks596.
145. Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. Genome Biol. 2002; 3:research0034.1–0034.11. https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-7-research0034.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

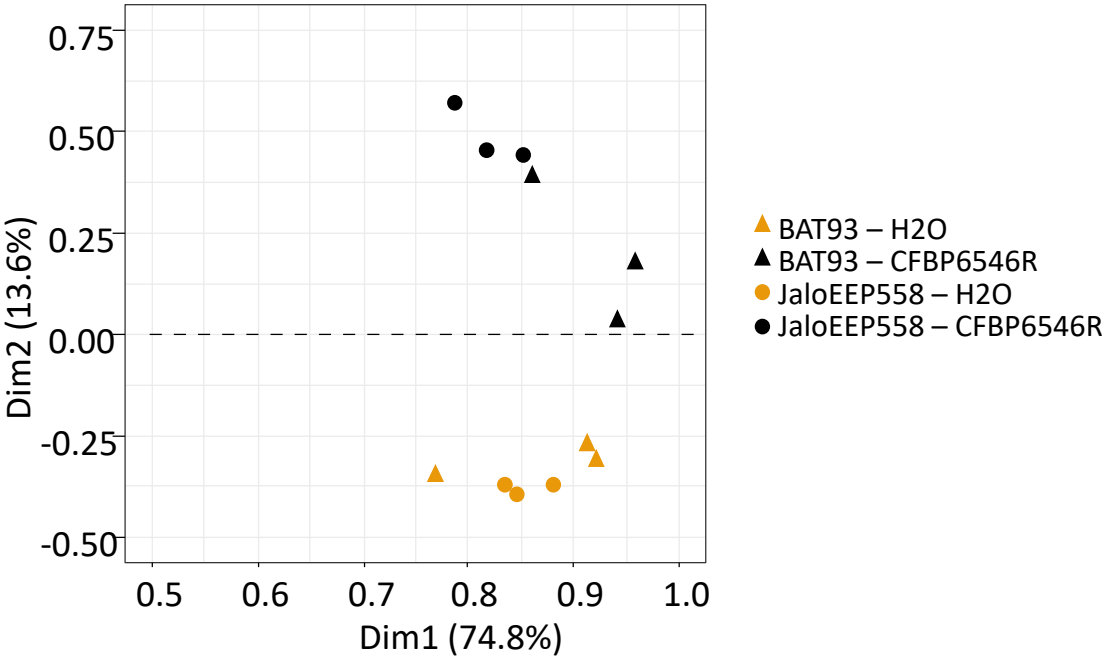
- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions

BMC

A



B

	JaloEEP558 H2O	BAT93 H2O	JaloEEP558 6546R	BAT93 6546R
JaloEEP558 H2O	0,92			
BAT93 H2O	0,78	0,87		
JaloEEP558 6546R	0,54	0,54	0,91	
BAT93 6546R	0,67	0,75	0,81	0,91

Figure S1. Statistical analysis of RNA-Seq data. Statistics were performed by using the total number of RNA-Seq reads mapped on the 20,787 homologs shared by BAT93 and JaloEEP558. Principal component analysis (**A**). Triangles and dots represent the barycenters of RNA-Seq data from BAT93 and JaloEEP558, respectively. Data from plants inoculated with H2O are in orange while data from plants inoculated with *Xanthomonas* strain CFBP6546R are in black. Pearson correlation matrix (**B**). Numbers represent the means of Pearson correlation coefficients calculated using three biological replicates per condition.

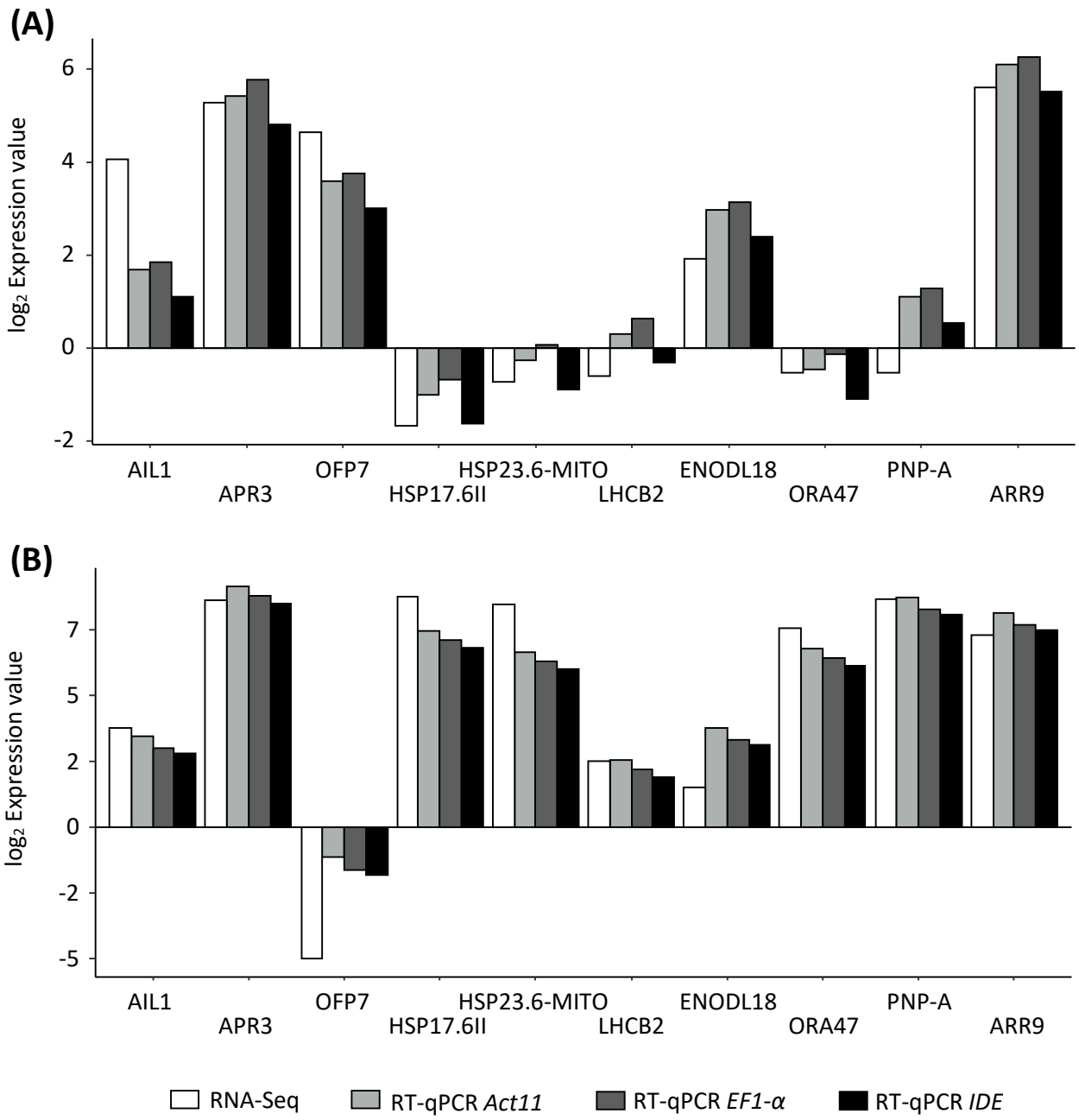


Figure S2. Validation of RNA-Seq results by RT-qPCR analysis in BAT93 (A) and JaloEEP558 (B). Gene expression data were expressed according to the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method (Vandesompele *et al.* 2002), relatively to three housekeeping genes : *Act11*, *EF1-α* and *IDE*, and to the value of water inoculated plants.

Full reference : Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, *et al.* Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. Genome Biol. 2002;3. doi:10.1186/gb-2002-3-7-research0034.

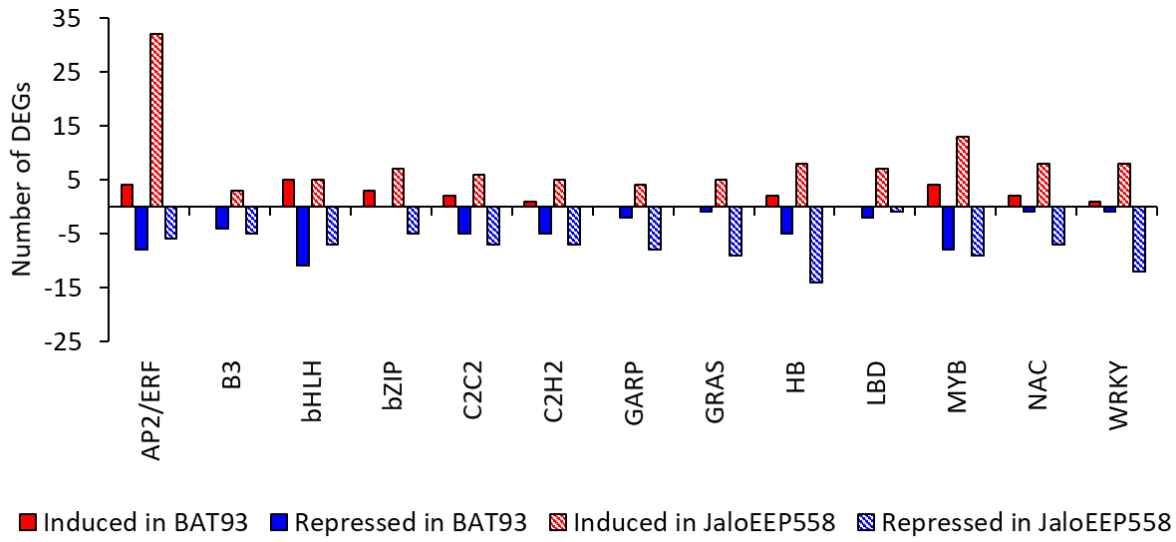


Figure S3. Numbers of DEGs in the different families of transcription factors. The list of common bean transcription factors was retrieved from the iTAK database (http://itak.feilab.net, Zheng *et al.* 2016). The numbers of induced and repressed genes are represented by red and blue bars respectively, in the specific transcriptomes of BAT93 (solid) or JaloEEP558 (hatched). Only families with at least 10 DEGs were represented.

Full reference :

Zheng Y, Jiao C, Sun H, Rosli HG, Pombo MA, Zhang P, *et al.* iTAK: A Program for Genome-wide Prediction and Classification of Plant Transcription Factors, Transcriptional Regulators, and Protein Kinases. Mol Plant. 2016;9:1667–70. doi:10.1016/j.molp.2016.09.014.

(A)

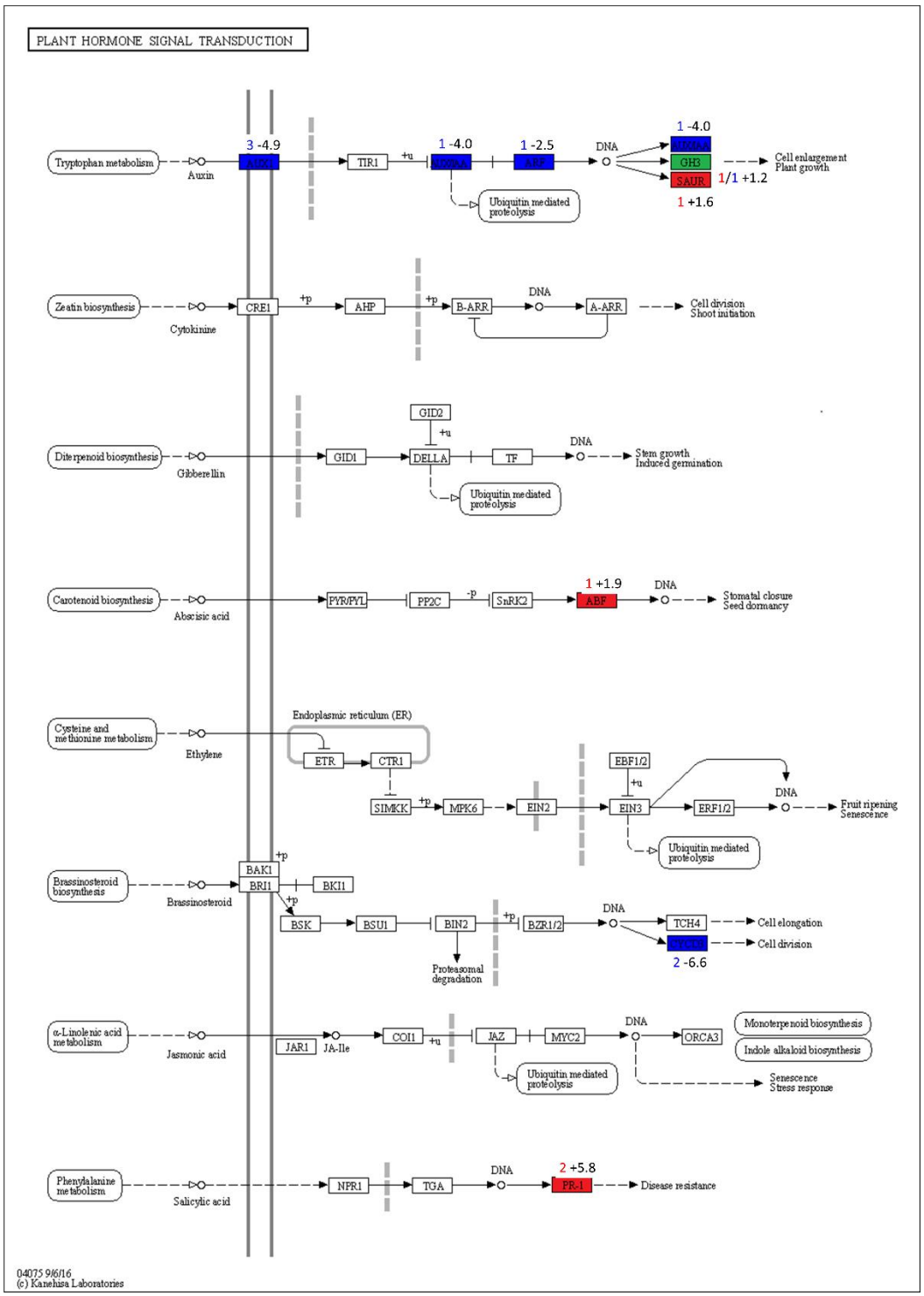


Figure S4 (A). KEGG orthology map for plant hormone signal transduction. The KEGG orthology maps (pvu04075) of BAT93 (**A**) and JaloEEP558 (**B**) highlight DEGs that were induced (red), repressed (blue), or both induced and repressed (green) 48 h after inoculation with *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*. The number of DEGs (colored numbers) and the average Log_2FC (black numbers) are indicated above the boxes.

(B)

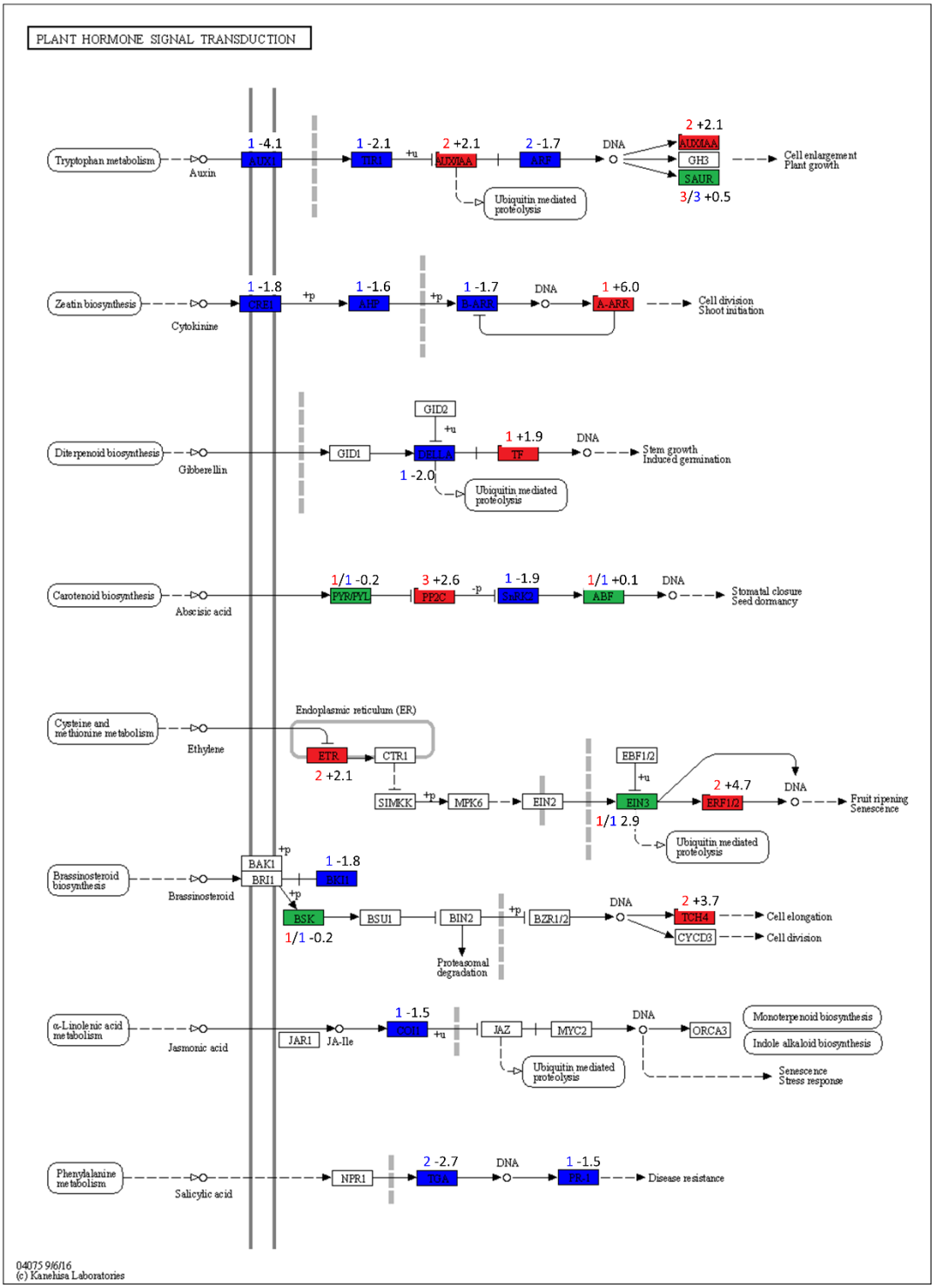


Figure S4 (B). KEGG orthology map for plant hormone signal transduction. The KEGG orthology maps (pvu04075) of BAT93 (**A**) and JaloEEP558 (**B**) highlight DEGs that were induced (red), repressed (blue), or both induced and repressed (green) 48 h after inoculation with *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*. The number of DEGs (colored numbers) and the average Log_2FC (black numbers) are indicated above the boxes.

Table S1. Number of genes shared among common bean genomes, as determined by reciprocal blastp (e-value < 1E-6).

Genome 1	Genome 2	Homologs
BAT93 (This study)	BAT93 (Vlasova *et al.*, 2016)	20513
JaloEEP558 (This study)	BAT93 (Vlasova *et al.*, 2016)	20328
BAT93 (This study)	G19833 (Schmutz *et al.* 2014)	22487
JaloEEP558 (This study)	G19833 (Schmutz *et al.* 2014)	22829
BAT93 (This study)	JaloEEP558 (This study)	27208

Full references :

Vlasova, A., Capella-Gutiérrez, S., Rendón-Anaya, M., Hernández-Oñate, M., Minoche, A. E., Erb, I., *et al.* Genome and transcriptome analysis of the Mesoamerican common bean and the role of gene duplications in establishing tissue and temporal specialization of genes. Genome Biol. 2016;17: 32. doi:10.1186/s13059-016-0883-6.

Schmutz, J., McClean, P. E., Mamidi, S., Wu, G. A. *et al.* A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. Nature Genetics. 2014;46:7. doi:10.1038/ng.3008.

Table S2. List of homologs shared by BAT93 and JaloEEP558.

Available here : https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-020-06972-6.

Table S3. List of DEGs in BAT93 and JaloEEP558 48 h after inoculation by *X. phaseoli* pv. *phaseoli* strain CFBP6546R.

Available here : https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-020-06972-6.

Table S4. Raw enrichment tests on the core, BAT93-specific or JaloEEP558-specific transcriptomes.

Available here : https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-020-06972-6.

Table S5. Enrichment tests on the core, BAT93-specific or JaloEEP558-specific transcriptomes, using induced or repressed DEGs separately.

		Core		Bat93-specific		JaloEEP558-specific	
GO terms	**Description**	**Up**	**Down**	**Up**	**Down**	**Up**	**Down**
GO:0044237	cellular metabolic process		146				
GO:0009987	cellular process		182				
GO:0010467	gene expression					115	
GO:0016070	RNA metabolic process					105	
GO:0005975	carbohydrate metabolic process		24				
GO:0016051	carbohydrate biosynthetic process						10
GO:0065007	biological regulation					127	
GO:0055114	oxidation-reduction process		60				
GO:0006412	translation						15
GO:0006811	ion transport		11				
GO:0051179	localization		49				
GO:0046483	heterocycle metabolic process		10				
GO:0044281	small molecule metabolic process				31		79
GO:0006807	nitrogen compound metabolic process					131	
GO:0034641	cellular nitrogen compound metabolic process				13		
GO:0019538	protein metabolic process		94				
GO:0044267	cellular protein metabolic process		72				
GO:0006520	cellular amino acid metabolic process				10		
GO:0043687	post-translational protein modification						145
GO:0006468	protein phosphorylation						135
GO:0006793	phosphorus metabolic process						139
GO:0010556	regulation of macromolecule biosynthetic process					101	

Enrichment tests were performed using the Parametric Analysis of Gene set Enrichment (PAGE) analysis on AgriGO v2 (http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2, Tian *et al.* 2017). GO terms were considered enriched when comprising a minimum of 10 genes and presenting a False Discovery Rate (FDR) below 0.05. Enriched GO terms were then summarized using REVIGO (http://revigo.irb.hr, Supek *et al.* 2011). The number of genes in each enriched GO term are listed in blue (downregulated) or red (upregulated) boxes.

Full references :

Supek F, Bošnjak M, Škunca N, Šmuc T. Revigo summarizes and visualizes long lists of gene ontology terms. PLoS One. 2011;6:e21800.

Tian T, Liu Y, Yan H, You Q, Yi X, Du Z, *et al.* AgriGO v2.0: A GO analysis toolkit for the agricultural community, 2017 update. Nucleic Acids Res. 2017;45:W122–9.

Table S6. List of enriched MapMan bins in the BAT93-specific and JaloEEP558-specific transcriptomes.

Group	Bin	Name	Number of DEGs	p-value
BAT93-specific	1.1.1.1	PS.lightreaction.photosystem II.LHC-II	8	8,14E-04
	1.1.1	PS.lightreaction.photosystem II	17	1,52E-03
	1.1	PS.lightreaction	32	2,12E-03
	26.28	misc.GDSL-motif lipase	8	6,14E-03
	35.1	not assigned.no ontology	49	7,27E-03
JaloEEP558-specific	30.2	signalling.receptor kinases	138	1,30E-11
	20.1	stress.biotic	93	1,40E-08
	35.2	not assigned.unknown	666	5,00E-07
	20.1.7	stress.biotic.PR-proteins	47	2,54E-06
	30	signalling	235	3,09E-06
	30.2.24	signalling.receptor kinases.S-locus glycoprotein like	20	1,72E-05
	35	not assigned	874	3,19E-05
	35.1.5	not assigned.no ontology.pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein	63	2,19E-04
	27.3.3	RNA.regulation of transcription.AP2/EREBP, APETALA2/Ethylene-responsive element binding protein family	27	2,62E-04
	17.5	hormone metabolism.ethylene	22	2,66E-04
	17.5.2	hormone metabolism.ethylene.signal transduction	15	6,52E-04
	16	secondary metabolism	90	6,87E-04
	20	stress	156	1,66E-03
	34.21	transport.calcium	8	2,03E-03
	26.28	misc.GDSL-motif lipase	8	2,06E-03
	30.2.20	signalling.receptor kinases.wheat LRK10 like	8	3,01E-03
	16.8.2	secondary metabolism.flavonoids.chalcones	7	3,48E-03
	27.3	RNA.regulation of transcription	303	4,59E-03
	27.3.37	RNA.regulation of transcription.AS2,Lateral Organ Boundaries Gene Family	8	5,06E-03
	26	misc	188	5,61E-03
	31	cell	96	5,61E-03
	10.7	cell wall.modification	9	5,78E-03
	27.3.24	RNA.regulation of transcription.MADS box transcription factor family	3	6,43E-03
	29.5.5	protein.degradation.serine protease	13	7,08E-03
	16.2.1	secondary metabolism.phenylpropanoids.lignin biosynthesis	16	7,44E-03
	27	RNA	329	8,17E-03
	31.4	cell.vesicle transport	17	8,60E-03
	33.1	development.storage proteins	4	8,98E-03
	30.2.16	signalling.receptor kinases.Catharanthus roseus-like RLK1	13	9,52E-03
	11.1	lipid metabolism.FA synthesis and FA elongation	21	9,83E-03

Table S6 caption : Enriched bins were defined using the automated Wilcoxon rank sum test (p-value < 0,01) performed in Mapman (Thimm *et al.* 2004).

Full reference :
Thimm O, Bläsing O, Gibon Y, Nagel A, Meyer S, Krüger P, *et al.* MAPMAN: A user-driven tool to display genomics data sets onto diagrams of metabolic pathways and other biological processes. Plant J. 2004;37:914–39, doi:10.1111/j.1365-313X.2004.02016.x.

Table S7. Lists of DEGs in different functions:

Tab 1 : List of differentially-expressed NLRs.
Tab 2 : List of differentially-expressed RLKs.
Tab 3 : List of differentially-expressed kinases.
Tab 4 : List of differentially-expressed transcription factors.
Tab 5 : List of differentially-expressed lipid-associated genes.
Tab 6 : List of differentially-expressed cell-wall-associated genes.

Available here : https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-020-06972-6.

Table S8. List of DEGs with $|\Delta \log_2 FC| > 5$.

Available here : https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-020-06972-6.

Table S9. List of DEGs with an inverse expression pattern between BAT93 and JaloEEP558.

Chromosome	Gene ID	Annotation	log_2FC BAT93	BH BAT93	log_2FC JaloEEP558	BH JaloEEP558	$\|\Delta log_2FC\|$	GO terms
Chr09	Phvul.009G057100	ovate family protein 7	4,64	1,25E-03	-4,99	2,23E-03	9,63	0
Chr03	Phvul.003G265800	PLAC8 family protein	3,25	1,99E-05	-4,07	2,65E-02	7,32	0
Chr09	Phvul.009G119200	SBP (S-ribonuclease binding protein) family protein	1,54	2,13E-02	-4,90	1,89E-04	6,44	0
Chr06	Phvul.006G197100	CAP (Cysteine-rich secretory proteins, Antigen 5, and Pathogenesis-related 1 protein) superfamily protein	4,85	1,94E-04	-1,52	2,23E-02	6,37	0
Chr06	Phvul.006G056500	NB-ARC domain-containing disease resistance protein	1,92	3,29E-02	-1,77	6,88E-03	3,69	GO:0043531
Chr01	Phvul.001G229800	plasmodesmata-located protein 7	-5,58	1,42E-02	5,80	6,38E-05	11,38	0
Chr01	Phvul.001G039700	17.6 kDa class II heat shock protein	-1,67	3,19E-02	8,75	6,95E-15	10,42	0
Chr08	Phvul.008G137100	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein	-3,68	5,71E-03	5,63	1,28E-02	9,31	0
Chr08	Phvul.008G081300	Protein kinase superfamily protein	-3,96	1,97E-02	3,96	6,85E-09	7,92	GO:0006468,GO:0005524,GO:0004672
Chr02	Phvul.002G318500	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily	-1,86	2,56E-02	3,43	4,39E-06	5,28	GO:0042545,GO:0030599,GO:0005618
Chr01	Phvul.001G061000	Sulfite exporter TauE/SafE family protein	-1,86	7,51E-03	3,23	5,39E-06	5,09	GO:0016021
Chr07	Phvul.007G018600	FAD/NAD(P)-binding oxidoreductase family protein	-1,88	8,64E-03	2,98	5,17E-04	4,86	GO:0071949
Chr02	Phvul.002G096500	UDP-glucosyl transferase 72E1	-1,60	1,25E-07	3,05	4,01E-11	4,66	GO:0016758,GO:0008152
Chr06	Phvul.006G068600	fatty acid desaturase 8	-2,14	2,14E-03	2,18	1,14E-03	4,32	GO:0055114,GO:0016717,GO:0006629
Chr09	Phvul.009G181400	Putative thiol-disulphide oxidoreductase DCC	-1,53	3,99E-02	2,48	1,72E-10	4,01	0
Chr07	Phvul.007G049700	cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 29	-1,88	3,09E-03	1,68	1,37E-03	3,56	0

BH: Benjamini-Hochberg adjusted p-values. Expression values are expressed in log_2FC (BH < 0.05). Induced and repressed genes are highlighted in red and blue, respectively. The $|\Delta log_2FC|$ was calculated as follows : $|log_2FC$ BAT93 - log_2FC JaloEEP558$|$.

Table S10. List of DEGs in the four QRLs to CBB described in the progeny of BAT93xJaloEEP558 (Nodari *et al.*, 1993).

Available here : https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-020-06972-6

Table S11. Genetic markers associated to the four QRLs to CBB described by Nodari *et al.* 1993b.

Available here : https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-020-06972-6

Table S12. Results of the enrichment tests according to the core, BAT93-specific or JaloEEP558-specific transcriptome and according to different log_2FC threshold.

GO terms	Description	Core									BAT93 specific									JaloEEP558 specific								
		|log2FC| > 1			|log2FC| > 1,5			|log2FC| > 2			|log2FC| > 1			|log2FC| > 1,5			|log2FC| > 2			|log2FC| > 1			|log2FC| > 1,5			|log2FC| > 2		
		Number of DEGs		Log2FC mean	Number of DEGs		Log2FC mean	Number of DEGs		Log2FC mean	Number of DEGs		Log2FC mean	Number of DEGs		Log2FC mean	Number of DEGs		Log2FC mean	Number of DEGs		Log2FC mean	Number of DEGs		Log2FC mean	Number of DEGs		Log2FC mean
		+	-		+	-		+	-		+	-		+	-		+	-		+	-		+	-		+	-	
GO:0065007	biological regulation	123	73	0,9	85	42	1,3				50	64	-0,5				29	37	-0,5	160	119	4,4	127	101	0,6	103	72	1,0
GO:0050794	regulation of cellular process	120	62	1,0	83	32	1,6	48	22	1,7	49	58	-0,3	28	47	-0,6	27	31	-0,2									
GO:0010467	gene expression	107	72	0,8	70	36	1,3	42	21	1,7										149	140	3,2	115	94	0,6	88	59	1,1
GO:0015979	photosynthesis	0	15	-2,3	0	10	-2,7				1	34	-2,6	0	26	-3,2	0	22	-3,5									
GO:0019684	photosynthesis, light reaction										0	15	-3,7	0	15	-3,7	0	15	-3,7									
GO:0044238	primary metabolism	265	338	-0,1																375	543	-2,6	286	445	-0,5	218	315	-0,5
GO:0008152	metabolic process	352	507	-0,3	229	284	-0,2	152	174	0,0										511	730	-2,8	399	606	-0,4	301	442	-0,5
GO:0006464	protein modification process																						67	155	-1,1			
GO:0043687	post-translational modification	57	109	-0,7	35	60	-0,5													87	156	-3,7	65	145	-1,1	48	115	-1,4
GO:0043412	macromolecule modification	61	113	-0,6	38	61	-0,5													96	178	-4,0	67	157	-1,1	48	119	-1,4
GO:0006793	phosphorus metabolism	59	99	-0,5																83	155	-4,0	66	139	-1,0	46	108	-1,4
GO:0006796	phosphate-containing compound metabolic process																			83	155	-4,0				46	108	-1,4
GO:0008037	cell recognition	1	11	-1,9																1	17	-4,1	2	21	-2,4	1	18	-2,8
GO:0009856	pollination	1	11	-1,9																1	17	-4,1	2	21	-2,4	1	18	-2,8
GO:0000003	reproduction	1	11	-1,9																1	17	-4,1	2	21	-2,4	1	18	-2,8
GO:0051704	multi-organism process																			1	17	-4,1	2	21	-2,4	2	18	-2,5
GO:0023052	signaling				17	4	2,0				14	8	0,4	8	6	0,2	8	3	1,1	36	53	-2,0	23	50	-1,0	12	38	-1,5
GO:0019538	protein metabolism	87	174	-0,7	50	94	-0,6	37	52	-0,3										138	272	-4,6	102	212	-0,9	67	151	-1,3
GO:0044267	cellular protein metabolic process	76	142	-0,6																119	232	-4,0				55	128	-1,3
GO:0009059	macromolecule synthesis	115	84	0,7	77	43	1,1							26	45	-0,7												
GO:0055114	oxidation-reduction process	57	99	-0,6	40	60	-0,5	29	41	-0,5																		
GO:0051179	localization	38	86	-0,7	20	49	-0,9													79	115	-2,4	53	98	-0,8	38	77	-1,1
GO:0006810	transport	37	85	-0,7	20	49	-0,9																					
GO:0006950	response to stress	17	30	-0,8	6	13	-1,5	3	10	-2,0																		
GO:0034641	cellular nitrogen compound metabolic process	9	32	-0,8																								
GO:0050896	response to stimulus	21	44	-0,9	10	19	-1,2	7	15	-1,4																		
GO:0042221	response to chemical	5	16	-1,6	3	10	-1,8	3	9	-1,8																		
GO:0006979	response to oxidative stress	2	9	-1,9																								
GO:0006952	defense response																			3	16	-2,2	3	13	-1,6			
GO:0016051	carbohydrate biosynthetic process										7	5	0,5															
GO:0006139	nucleobase-containing compound metabolism							45	22	1,7	44	68	-0,4	26	50	-0,7	22	35	-0,6									
GO:0006807	nitrogen compound metabolism				84	48	1,1	49	26	1,6	47	84	-0,5	29	60	-0,7	25	42	-0,7	178	180	2,3				104	105	0,4
GO:0006091	metabolic energy generation										0	25	-3,1	0	22	-3,4	0	18	-3,8									
GO:0009058	biosynthetic process				96	62	1,0				56	107	-0,5	37	71	-0,7	28	50	-0,7									
GO:0044249	cellular synthesis										52	88	-0,5	34	60	-0,6	27	40	-0,5									
GO:0006857	oligopeptide transport										0	14	-3,4	0	12	-3,7	0	11	-3,9									
GO:0006355	regulation of transcription, DNA-templated																			114	75	4,8	100	70	0,8	82	49	1,3
GO:0022607	cellular component assembly																			20	3	2,2						
GO:0044281	small molecule metabolism																			49	89	-2,1	29	79	-0,9			
GO:0009987	cellular process																			458	616	-2,4	323	501	-0,5	235	355	-0,5
GO:0007154	cell communication																			11	20	-2,5	5	24	-1,9	1	18	-2,8
GO:0006629	lipid metabolism							6	18	-1,6										28	50	-2,8	22	42	-1,0			
GO:0032501	multicellular organismal process																			3	18	-3,0	4	21	-1,8	2	18	-2,2
GO:0055085	transmembrane transport																			31	64	-3,4	22	61	-1,3	18	49	-1,5
GO:0012501	programmed cell death																			1	34	-5,3	2	30	-2,5	1	24	-2,9
GO:0008219	cell death																			1	36	-5,7	2	32	-2,6	1	28	-3,1
GO:0006468	protein phosphorylation				31	55	-0,6										4	34	-3,0									
GO:0006508	proteolysis				7	22	-1,3	6	15	-1,3																		
GO:0019752	carboxylic acid metabolism																						14	43	-1,1			
GO:0046483	heterocycle metabolism																						3	19	-1,5			
GO:0009308	amine metabolism																						9	36	-1,5	7	27	-1,5
GO:0009309	amine biosynthesis																						3	17	-1,8	1	14	-2,2
GO:0006520	cellular amino acid metabolic process																									7	26	-1,4

Scale
-2
-1
0
1
2

Table S12 caption : Enrichment tests were performed using the Parametric Analysis of Gene set Enrichment (PAGE) analysis on AgriGO v2 (http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2, Tian *et al.* 2017). GO terms were considered enriched when comprising a minimum of 10 genes and presenting a False Discovery Rate (FDR) below 0.05. Enriched GO terms were then summarized using REVIGO (http://revigo.irb.hr, Supek *et al.* 2011). For each GO term, number of induced and repressed DEGs are indicated in red and blue respectively. Numbers of upreguated (+) or downregulated (-) genes are indicated.

Full references :
Supek F, Bošnjak M, Škunca N, Šmuc T. Revigo summarizes and visualizes long lists of gene ontology terms. PLoS One. 2011;6:e21800.
Tian T, Liu Y, Yan H, You Q, Yi X, Du Z, *et al.* AgriGO v2.0: A GO analysis toolkit for the agricultural community, 2017 update. Nucleic Acids Res. 2017;45:W122–9

Table S13. Primers used for RT-qPCR assays.

Gene Name	Gene ID G19833	Gene ID BAT93	Gene ID JaloEEP558	Gene ID A.Thaliana	Annotation	Forward	Reverse	Amplification lenght (bp)
ORA47	Phvul.009G084400	PVBAT9302091g0198891	PVJaloEEP55809698g0311711	AT1G74930	Integrase-type DNA-binding superfamily protein	CCACTGCCTCGTCATGTTCT	CGGGAAAAACTTCGTTGGAGT	120
LHCB2	Phvul.008G285100	PVBAT9301994g0195221	PVJaloEEP55802929g0242041	AT2G05100	photosystem II light harvesting complex gene 2.1	CAACCTGAACAGCCCAGATGG	TGAGGCAGTGTGGTTCAAGG	119
OFP7	Phvul.009G057100	PVBAT9300935g0136301	PVJaloEEP55800095g0038491	AT2G18500	ovate family protein 7	CGTCCTGACAAATCTCGTCGGA	ATGTGCCGTGACAAGGACCC	166
APR3	Phvul.003G079800	PVBAT9312175g0315261	PVJaloEEP55811095g0315931	AT4G21990	APS reductase 3	CTCGACCCGTCAACTTTGCATAC	TGCCTCACCTCTTCAAATCATGG	119
HSP17.6II	Phvul.001G039700	PVBAT9308337g0299221	PVJaloEEP55801978g0210011	AT5G12020	17.6 kDa class II heat shock protein	TGTCTTGTCCCCTGCACCTTC	CAGAGTGATGGGTTTGGAGTCTC	85
HIPP09	Phvul.009G038800	PVBAT9308714g0301341	PVJaloEEP55802047g0212881	AT5G24580	Heavy metal transport/detoxification superfamily protein	AGCAGCTCAAACGGAAGATACTC	GTCCACTAGCCTGTTTGCATCC	113
ATHSP23.6-MITO	Phvul.011G016200	PVBAT9300212g0059071	PVJaloEEP55800329g0085071	AT4G25200	mitochondrion-localized small heat shock protein 23.6	GCGCTCCTTGTTATGTTAAGATTGG	CTTAGGCAAAATGATCTTCAGTACACC	104
PNP-A	Phvul.009G094000	PVBAT9300922g0135071	PVJaloEEP55801009g0157201	AT2G18660	plant natriuretic peptide A	ACAAGTGAGCCTAGTTATGGGAG	CGCTATTTCCACCGCAAGCAG	86
AIL1	Phvul.010G130200	PVBAT9300896g0133221	PVJaloEEP55800070g0030021	AT1G72570	Integrase-type DNA-binding superfamily protein	TGTGTGTTGCTGACTCCTTCAC	GTAGCAGCCCAAAAAGTCCTC	120
ENODL18	Phvul.008G074200	PVBAT9300962g0138521	PVJaloEEP55800041g0019281	AT1G08500	early nodulin-like protein 18	TGCAGTTCAGATAGGTCGTCTTG	CTCCACCACCAACATACCCG	143
ARR9	Phvul.001G125800	PVBAT9301210g0155301	PVJaloEEP55803280g0250741	AT3G57040	response regulator 9	CTGTCAGTCTCAGGTGAAAGCC	CAGCCAGAGTCAGAGTCAAAGC	119
EF1-α	Phvul.004G060000	PVBAT9301326g0162361	PVJaloEEP55800402g0096651	AT1G07920	GTP binding Elongation factor Tu family protein	CAAGGATCTCAAGCGTGGTTTCG	TGGGAGGTGTGGCAATCAAGC	150
Act11	Phvul.008G011000	PVBAT9302328g0208111	PVJaloEEP55800008g0005041	AT3G12110	actin-11	TGCATACGTTGGTGATGAGG	AGCCTTGGGGTTAAGAGGAG	190
IDE	Phvul.001G133200	PVBAT9303034g0230201	PVJaloEEP55803273g0250661	AT2G41790	Insulinase (Peptidase family M16) family protein	GCAACCAACCTTTCATCAGC	AGAAATGCCTCAACCCTTTG	156

3. Discussion et perspectives

L'étude transcriptomique qui est présentée dans ce chapitre a permis de mettre en évidence des voies importantes pour la sensibilité ou la résistance du haricot à *Xanthomonas.* Cette étude vient enrichir les connaissances actuelles sur les interactions plantes-pathogènes. Notamment, la voie de l'acide salicylique semble impliquée dans la résistance chez BAT93. Il pourrait alors être intéressant de tester l'application d'acide salicylique pour prévenir l'infection.

De plus, nous avons mis en évidence 35 gènes potentiellement impliqués dans la résistance ou la sensibilité du haricot à *Xanthomonas.* L'implication de ces gènes sur le phénotype des plantes sera validée lors de la prochaine thèse menée par Charlotte Gaudin. Pour cela des dTALE capables d'induire ces gènes ont été construits durant le stage de master 2 de Charlotte, et seront inoculés sur JaloEEP558, afin de juger si ces gènes permettent une diminution des symptômes. La validation de ces gènes pourrait alors offrir de nouvelles perspectives quant au développement de résistances à *Xanthomonas* chez le haricot.

Chapitre 2 :
Mise au point d'un test de pouvoir pathogène discriminant pour l'étude des effecteurs TAL

1. Préambule

Durant cette thèse de nombreux tests de pouvoir pathogène ont été programmés pour évaluer l'impact des effecteurs TAL dans l'agressivité de *Xpp-Xcf*. Dans le cadre de la thèse précédente (Ruh, 2017) et de mes projets de stage en masters 1 et 2, des tests de pouvoir pathogène sur BAT93 et JaloEEP558 ont été conduits au laboratoire. Cependant, des symptômes foliaires spontanés apparaissaient sur un certain nombre de haricots JaloEEP558 avant même l'inoculation, ce qui empêchait la poursuite des expériences sur ce génotype. Or, ce génotype est particulièrement intéressant pour l'étude des effecteurs TAL, car il est sensible à *Xpp-Xcf* et nous disposons de sa séquence génomique et d'un transcriptome après infection (cf chapitre 1 : Foucher *et al.*, 2020).

Pour résoudre ce problème, en début de cette thèse, des échantillons de feuilles de JaloEEP558 présentant des symptômes spontanés ont été analysés au laboratoire et à l'INRAE d'Avignon afin de déceler de potentiels agents pathogènes. Cependant, aucun microorganisme ou virus n'a pu être détecté comme responsable de ces symptômes, conduisant à la conclusion qu'ils devaient être d'origine abiotique. Avec l'aide et les conseils de Daniel Sochard, j'ai mené une batterie de tests en conditions contrôlées pour mettre au point de nouvelles conditions de culture favorables à un développement homogène et convenable des haricots JaloEEP558. Différents types de terreau, conditions de fertilisation et de luminosité ont été testées. Ces travaux ne sont pas présentés ici, mais les conditions de culture du haricot ont été optimisées, rendant les expérimentations sur JaloEEP558 de nouveau possible.

Une fois les conditions de culture mises au point, des premiers tests ont été effectués en trempant la première trifoliée de chaque plante dans une suspension bactérienne, puis en évaluant les symptômes par fluorescence de chlorophylle sur la plateforme PHENOTIC de l'IRHS d'Angers, comme cela était couramment pratiqué dans l'équipe d'accueil (Rousseau *et al.*, 2015). Cependant, cette méthodologie ne permettait pas d'obtenir sur JaloEEP558 des résultats répétables et discriminants entre les souches de *Xpp-Xcf*, ou bien entre des souches sauvages et des mutants d'effecteurs TAL. C'est pourquoi, j'ai mis au point un nouveau protocole d'inoculation et d'évaluation des symptômes, afin d'obtenir rapidement des résultats répétables pour discriminer les différentes souches testées. Pour valoriser ce travail, j'ai rédigé un article présentant une comparaison des deux méthodes d'inoculation utilisées. Cette publication dont je suis le premier auteur, sera soumise avant 2021 dans le journal : Plant Pathology.

Dans l'article suivant, j'ai mené l'ensemble des expérimentations et analyses, produit l'ensemble des figures de tests de pouvoir pathogène, et rédigé la première version du manuscrit. Pour obtenir ces résultats, j'ai bénéficié de l'aide d'Anne Préveaux, de Sophie Bonneau et de Charlotte Gaudin durant les tests de pouvoir pathogène. Le traitement des images en fluorescence de chlorophylle a été assuré en grande partie par Florian Barbazange, Tristan Bourreau, et Guillaume Lebreton. Les mutants de *tal* ont été produits au cours de la thèse de Mylène Ruh, et leur analyse génomique a été réalisée avec l'aide de Martial Briand. L'optimisation et le traitement des images RGB par le logiciel ilastik ont été menés par Nicolas

Chen et Tristan Bourreau. Marie-Agnès Jacques et Nicolas Chen m'ont conseillé durant ces essais et ont participé à la rédaction de l'article suivant.

2. Improving common bacterial blight phenotyping by using rub-inoculation and machine learning: cheaper, better, faster, stronger.

Justine Foucher, Mylène Ruh, Anne Préveaux, Martial Briand, Florian Barbazange, Sophie Bonneau, Tristan Boureau, Marie-Agnès Jacques and Nicolas W. G. Chen*.

IRHS, INRAE, AGROCAMPUS OUEST, Université d'Angers, SFR4207 QUASAV, 42, rue Georges Morel, F-49071 Beaucouzé, France.
* Corresponding author: nicolas.chen@agrocampus-ouest.fr

Keywords: phenotyping, plant disease, bacterial blight, *Xanthomonas*, TAL effectors, *Phaseolus vulgaris*.

ABSTRACT

Accurate assessment of plant symptoms plays a key role for measuring the impact of pathogens during plant-pathogen interaction. Common bacterial blight caused by *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* (*Xpp-Xcf*) is a major threat to common bean. The pathogenicity of these bacteria is variable among strains, and depends mainly on a type III secretion system and associated effectors such as transcription activator-like effectors (TALEs). Because the impact of a single gene is often small and difficult to detect, a discriminating methodology is required to distinguish the slight phenotype changes induced during the progression of the disease. Here, we compared two different inoculation and symptoms assessment methods for their ability to distinguish two *tal* mutants from their corresponding wild-type strains. Interestingly, rub-inoculation of the first leaves combined with symptom assessment by machine learning-based imaging allowed significant distinction between wild-type and mutant strains. By contrast, dip-inoculation of first trifoliate leaves combined with chlorophyll fluorescence imaging did not differentiate the strains. Furthermore, the new method developed here led to the miniaturization of pathogenicity tests and to significant time savings.

INTRODUCTION

Monitoring the impact of pathogens on plants is essential for improving knowledge on plant-pathogen interactions and developing effective management practices (Bock *et al.*, 2010). Assessing plant symptoms is a key step in detecting plant resistance or evaluating the virulence of a pathogen. Pathogenicity tests must give homogeneous and reproducible results and use an objective method of symptoms assessment to be interpretable (Nutter *et al.*, 2006). Visual symptom assessment is a simple and easily accessible method used in many studies of plant-pathogens interactions. However, it lacks objectivity, accuracy and precision (Bock *et al.*, 2008; Poland and Nelson, 2010). The recent development of different optical techniques has allowed to automate the process of symptom assessment while ensuring a standardization of results (Mahlein, 2016). As such, computational image analysis provides a more objective, accurate, reproducible and quantitative measure of disease severity than visual assessment.

Common bacterial blight of bean (CBB) is a significant bacterial disease on common bean, with yield losses of more than 40% under favorable conditions (Singh and Miklas, 2015; Belete and Bastas, 2017; Rodríguez De Luque and Creamer, 2014). Symptoms can occur on leaves, stems, pods and seeds (Zaumeyer and Thomas, 1957). Leaf symptoms initially appear as water-soaked spots, which enlarge and can coalesce with adjacent lesions (Goodwin and Sopher, 1994). Foliar lesions are often surrounded by a chlorotic halo and evolve in necrosis, possibly resulting in the death of the entire leaf and partial defoliation of the plant. Water-soaked spots and necrosis can also be observed on pods and seeds. These symptoms evolve in dark red-brown lesions that are generally circular and slightly sunken (Vidaver, 1993).

CBB is caused by *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (*Xpp*) and *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* (*Xcf*) (Constantin *et al.*, 2016). Different *Xpp-Xcf* strains can have different levels of pathogenicity (Mkandawire *et al.*, 2004; Singh and Miklas, 2015; Tugume *et al.*, 2018). In addition, common bean resistance to CBB is mediated by numerous quantitative trait loci (Singh and Miklas, 2015; Yu *et al.*, 2012). The differences of aggressiveness combined with the presence of quantitative resistances lead to a wide range of possible disease intensities (Duncan *et al.*, 2011). Thus, the interaction between common bean and *Xpp-Xcf* must be finely phenotyped, in order to detect these variations as accurately as possible.

To phenotype CBB symptoms, different organs (seeds, pods, first leaves, trifoliate leaves, stems) can be inoculated in different ways. In particular, leaves can be inoculated by dipping, spraying, rubbing, multiple needles or infiltration (Aggour *et al.*, 1989; Popovic *et al.*, 2012). Traditionally, symptoms of CBB were assessed by visual evaluation using different rating scales based on a visual estimation of the percentage of infected leaf area (Aggour *et al.*, 1989; Cafati and Saettler, 1980a; Opio *et al.*, 1993; Pastor-Corrales *et al.*, 1981; Zapata, 2006). In 2012, it was shown that assessment of CBB symptoms by RGB image analysis was more reproducible and more objective than a rating scale, and presented a high differentiation power between plant genotypes (Xie *et al.*, 2012). Another method was developed based on non-invasive inoculation by dipping combined with chlorophyll fluorescence imaging

(Rousseau *et al.*, 2013). This last assessment method was successfully used to discriminate different degrees of resistance in common bean against *Xpp-Xcf* (Foucher *et al.*, 2020; Rousseau *et al.*, 2013). The pathogenicity of *Xanthomonas* is partly mediated by a type III secretion system (T3SS) and associated type III effectors (T3Es) (Büttner and Bonas, 2010). Among T3Es, *Xanthomonas* bacteria possess transcription activator-like effectors (TALEs). TALEs are injected inside the plant cell *via* the T3SS and migrate to the nucleus where they are able to induce targeted genes of the plant, often leading to disease enhancement (Boch and Bonas, 2010). Nine different TALE-encoding genes and alleles, were discovered in *Xpp-Xcf* (Ruh *et al.*, 2017). *Xcf* strain 6165R possesses only one *tal* gene named *tal22B* while *Xpp* strain 6546R bears two *tal* genes named *tal19I* and *tal18H*.

In this study, we generated *tal* mutant strains 6165RΔ*tal22B* and 6546RΔ*tal18H*. Then, the pathogenicity of strains 6165R and 6546R were compared to each other and to their corresponding *tal* mutants. For this, we used two different tests to phenotype CBB symptoms in controlled conditions. The first method corresponded to the method developed by Rousseau *et al.* (2013) on cultivar Flavert, consisting of dipping the first trifoliate leaf in bacterial suspension followed by chlorophyll fluorescence imaging (CFI). The second method corresponded to a new pathogenicity test consisting of rub-inoculation of the first leaves and evaluation of symptoms by machine learning-trained imaging (MLI). MLI was performed using the ilastik software, which was recently exploited in biomedical and environmental studies as well as plant symptoms assessment (Ilett *et al.*, 2020; Ojeda-Martinez *et al.*, 2020; Pike *et al.*, 2020; Rashid *et al.*, 2019).

MATERIALS AND METHODS

Bacterial strains and growth conditions

Xanthomonas phaseoli pv. *phaseoli* strain 6546R and *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* strain 6165R are rifamycin-resistant derivatives of strains CFBP6546 and CFBP6165 respectively. Strains were grown at 28 °C for 48 h on Trypticase Soy Agar (TSA) medium (17.0 $g.L^{-1}$ pancreatic digest of casein; 3.0 $g.L^{-1}$ enzymatic digest of soy bean; 5.0 $g.L^{-1}$ NaCl; 2.5 $g.L^{-1}$ K_2HPO_4; 2.5 $g.L^{-1}$ glucose; 15 $g.L^{-1}$ agar), then at 28 °C for 24 h on TSA10 (a 1/10 dilution of TSA, except for agar maintained at 15 $g.L^{-1}$) to obtain fresh bacterial cultures. Media were supplemented by rifamycin (50 mg. L^{-1}) for selection.

Mutagenesis of *tal* genes and validation of mutants

Plasmid pK18mob::sacB (Schäfer *et al.*, 1994) was used to generate marker-free deletion mutants of *tal22B* in strain 6165R or *tal18H* in strain 6546R. First, specific primers (Table S1) were designed according to whole genome data (Ruh *et al.*, 2017), to amplify flanking regions by PCR using the PHusion® High Fidelity DNA polymerase (Finnzymes,Waltham, MA, USA) following manufacturer's instructions. For each gene, PCR products were purified using the Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega), then cloned into the suicide plasmid pK18mob::sacB using digestion by *Bsa*I enzyme and ligation by T4 DNA ligase. Recombinant

plasmids were electrostransferred into competent 6165R or 6546R strains. Primary transformants were immediately grown in liquid MOKA medium (yeast extract 4 $g.L^{-1}$; casamino acids 8 $g.L^{-1}$; KH_2PO_4 2 $g.L^{-1}$; $MgSO_4.7H_2O$ 0,3 $g.L^{-1}$) for two hours at 28°C without selection, then plated on MOKA agar medium supplemented with kanamycin (50 $\mu g.mL^{-1}$). Kan^r colonies were then plated on MOKA medium supplemented with kanamycin and sucrose at 10% for selecting secondary recombinants. Resulting colonies were tested for deletion of *tal* genes by plasmid extraction followed by PCR and sequencing.

Two additional analyses were done to validate *tal* mutants. First, to confirm that TALE proteins corresponding to deleted genes were not produced, Western Blot assays were performed. Briefly, total proteins were extracted from 0.4 mL of overnight bacterial suspensions and migrated by Sodium Dodecyl Sulfate – Polyacrylamid Gel Electrophoresis (SDS-PAGE), then immunoblotted with a primary anti-TALE antibody. Second, to check the influence of deletion on the growth capacity of the mutants, bacterial growth control was performed. For this, liquid cultures at initial concentration of 1×10^6 $CFU.mL^{-1}$ were prepared in TSA10 broth, and the absorbance (λ = 600nm) was monitored every 8 or 30 min using a Labsystem Bioscreen C system, over an incubation period of 35 h at 28°C under shaking at 200 rpm. Each strain was controlled with technical triplicates and biological duplicates.

Genome sequencing, assembly and annotation

Genomic DNA of strains 6546RΔ*tal18H* and 6165RΔ*tal22B* was extracted with The WizardR Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, USA) according to manufacturer's recommendations. PacBio Single Molecule Real Time (SMRT) sequencing was performed at the Icahn School of Medicine at Mount Sinai (New York, USA) using one SMRT cell per strain to achieve ~100× coverage. De novo assembling was performed using HGAP assembler version 3.0 (Chin *et al.*, 2013; Pacific Biosciences, Menlo Park, USA). Annotation of the whole genome assembly was performed with EuGene-PP version 1.2 automated pipeline (Sallet *et al.*, 2014), using SWISS-PROT as protein and training protein databases (http://www.uniprot.org/). Average nucleotide identity analyses between genomes of wild-type and TALE-deleted strains were performed with pyANI (https://github.com/HuttonICS/pyani) (Pritchard *et al.*, 2016).

Plant materials and growing conditions

Seeds of the susceptible common bean cultivar JaloEEP558 were obtained from the Center for Tropical Agriculture (CIAT, Colombia), available under accession number G9603 (http://genebank.ciat.cgiar.org/genebank/main.do). Plants were seeded in plastic pots (7 × 7 × 8 cm) containing pre-wetted soil. The sowings were covered with a P17 veil for four days for homogenized germination. Plants were grown in a growth chamber at 23°C/20°C (day/night) with a relative humidity of 80% and a photoperiod of 16 hours. Plants were watered every two days with water for the first seven days, then with a nutrient solution (7.5-5-15 N-P-K) for up to 15 days, and with a richer nutrient solution (15-10-30 N-P-K) until the end of the trial. The day before inoculation, relative humidity and temperature were increased at 95% and

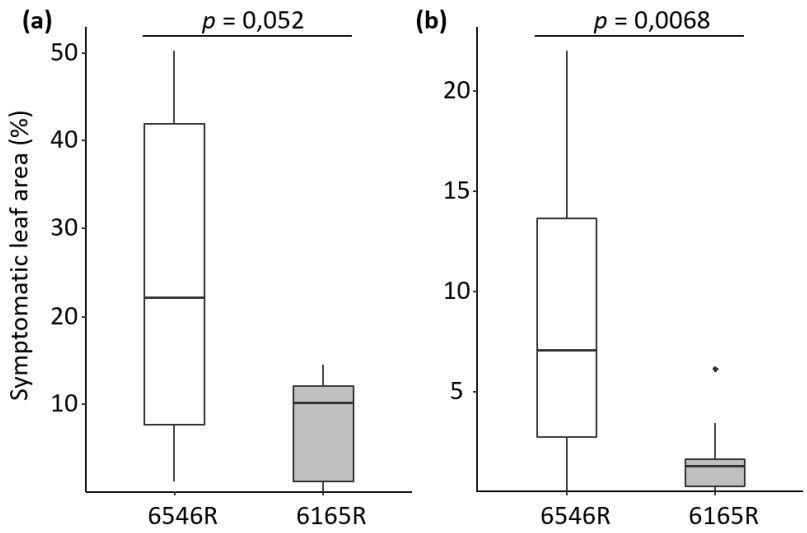


Figure 1. Strain 6546R is more aggressive than strain 6165R. Images were taken at 14 days post inoculation, and *p*-values were calculated by Mann-Whitney test (n = 10). Evaluation of symptoms was done by chlorophyll fluorescence imaging on trifoliate leaves inoculated by dipping (**a**), or by machine learning-based imaging on first leaves inoculated by rubbing (**b**).

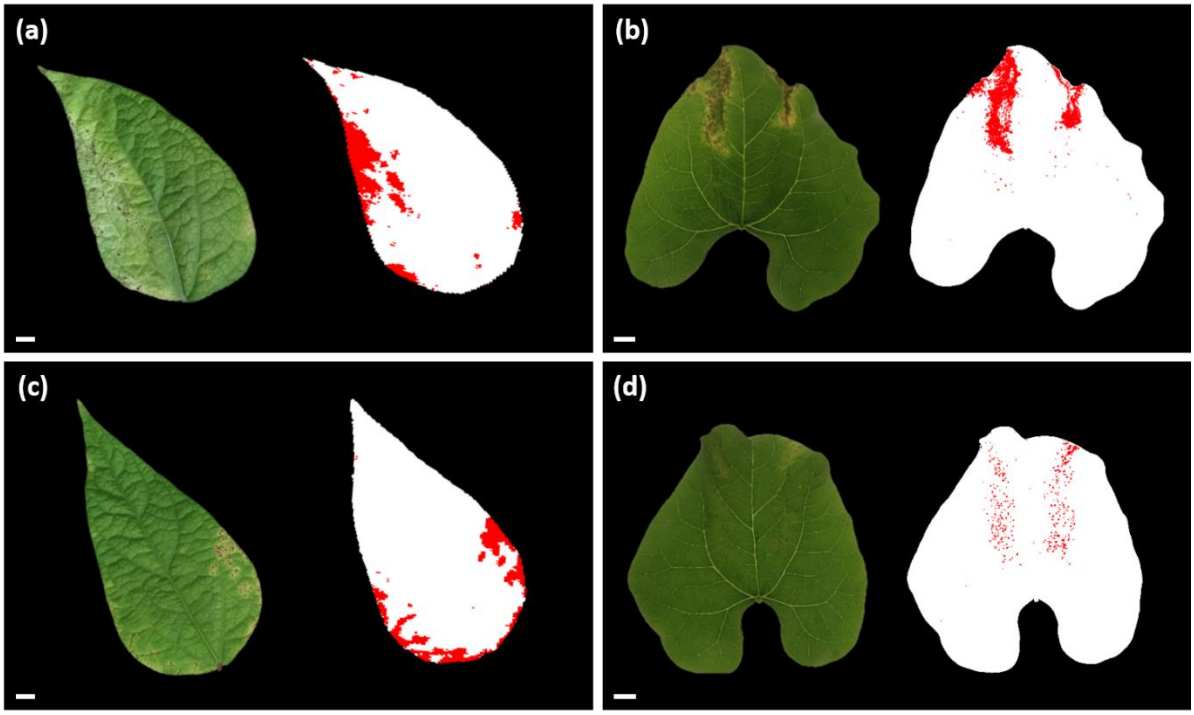


Figure 2. Visualization of symptoms produced by strains 6546R (a, b) of 6165R (c, d). The images correspond to leaves or leaflets from the experiment in Figure 1, presenting the closest symptom percentages to the median values. The symptoms detected appear in red on the surface of the leaf in white. Symptoms were assessed by chlorophyll fluorescence imaging after dip-inoculation of trifoliate leaves (**a**, **c**) or by machine learning-based imaging after rub-inoculation of first leaves (**b**, **d**). White bars correspond to 1 centimeter.

28°C/25°C (day/night) to provide adequate conditions for infection. On the third day after inoculation, humidity was reduced to 80% until the end of the assay.

Pathogenicity assays

For both methods, bacterial suspensions were calibrated at 1×10^7 CFU.mL^{-1} in sterile distilled water, and symptoms were monitored two weeks after inoculation. Each pathogenicity test was performed twice independently.

For phenotyping by chlorophyll fluorescence imaging (CFI), inoculations were performed at stage V1 (first trifoliolate leaf unfolded) by dipping the first trifoliate leaf for 30 s into bacterial suspensions or water as control. Symptom development was monitored by CFI at the PHENOTIC Seeds and Plants platform of the IRHS in Angers (France) as described in Rousseau *et al.* (2013). Briefly, inoculated leaflets were collected and set in the dark for 30 min. Then, for each leaflet, a first picture was taken under a modulated flash of light to measure basal fluorescence (F0) of the tissues, followed by another picture taken under a high flash of saturating light to measure the maximum fluorescence emission level (Fm). For each pixel, the maximum quantum yield of photosystem II photochemistry (Fv/Fm = (Fm-F0)/Fm) was calculated using Phenoplant (http://www.phenoplant.org) to discriminate diseased and healthy leaflet areas (Rousseau *et al.*, 2015). For each plant, results correspond to the average disease area of the three leaflets coming from the same inoculated leaf.

For phenotyping by machine learning-trained imaging (MLI), inoculations were performed by rub-inoculation on the two first leaves of eight-day-old plants. Rub-inoculation consisted of one passage of a gloved finger dipped in bacterial suspension or water as control. For each leaf, two inoculations were done on the limb on each side of the central vein. To evaluate the symptoms, detached leaves were put on a LED light table of 1,600 lumen and images were taken with a fixed-height digital camera (Canon EOS 700D, Canon Inc., Taiwan) and saved as JPEG files. Machine learning-based pixel segmentation was performed using the Pixel Classification workflow from ilastik v1.3.3 (Berg *et al.*, 2019). Training was performed using 19 features including color/intensity, edge and texture, on 20 images representative of the whole dataset in terms of leaf colour and intensity of symptoms (training file available upon request). Four labels were used for discriminating the background, leaf tissues, veins and symptoms. Symptoms corresponded to both chlorosis and necrotic tissues, as assessed by expert eye analysis. Segmentation of pixels corresponding to veins was done to optimize symptom detection, because veins could be misidentified as early symptoms or chlorosis. After the training, batch processing of all images was performed. Pixel quantification was done using FiJi (Schindelin *et al.*, 2012). Briefly, labels were retrieved using the “Image threshold” option. Then, the “Analyse particle” command was used to quantify pixels corresponding to either the background or the symptoms. Total leaf areas were retrieved by subtracting background pixels from the total image pixels.

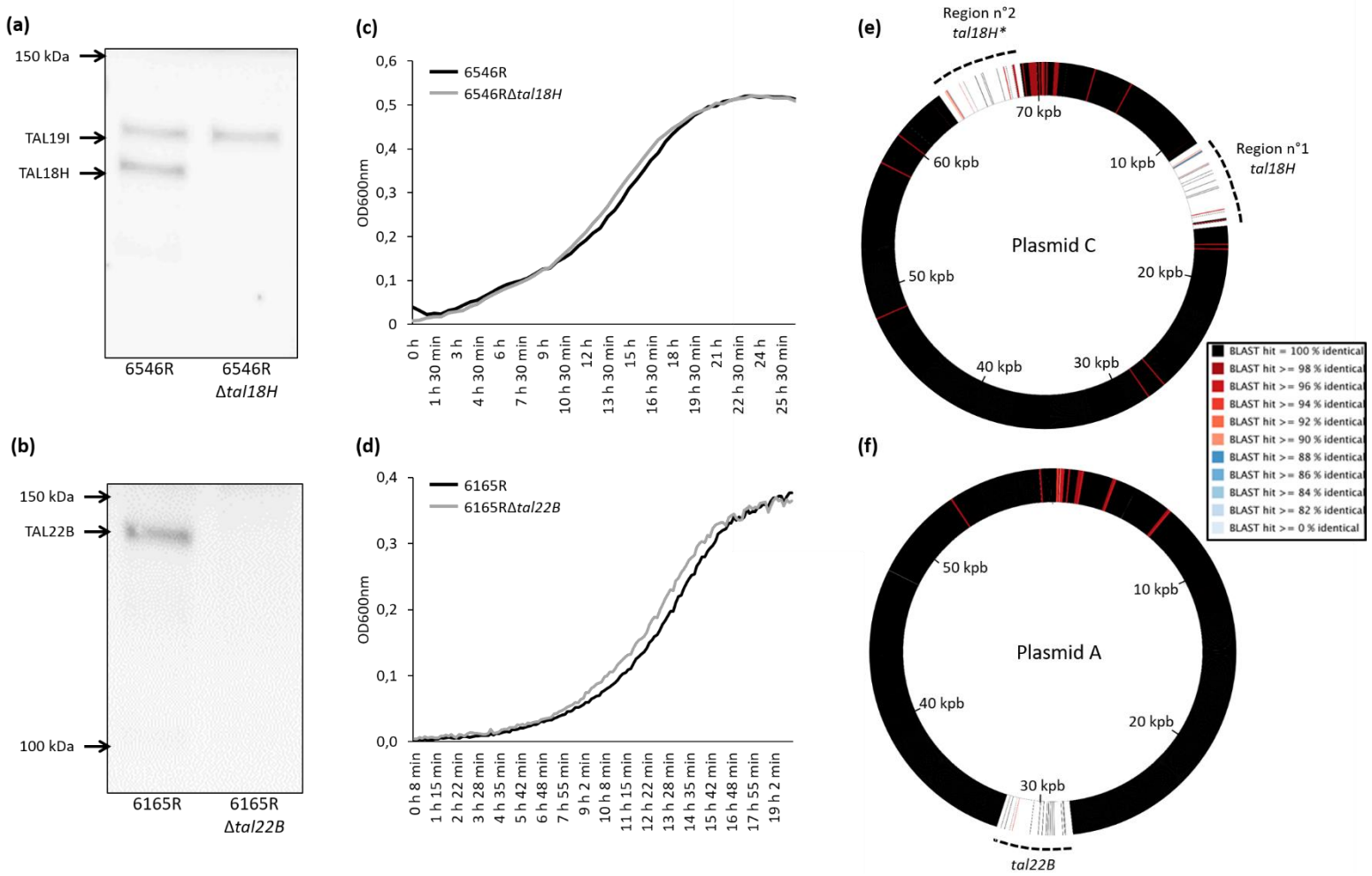


Figure 3. Description of *tal* mutant strains 6546RΔ*tal18H* (a, c, e) and 6165RΔ*tal22B* (b, d, f). Western blot analysis of TALEs (**a**, **b**). Bacterial growth dynamics of wild-type and mutant strains (**c**, **d**). Graphical map of plasmids from *tal* mutant strains using CGView (Grant *et al.*, 2012) with corresponding wild-type strains as references (**e**, **f**). Colours differ according to identity percentages (see legend). Plasmid C of 6546RΔ*tal18H* was deleted of regions n°1 containing *tal18H* and n°2 containing the pseudogene *tal18H** (**e**). Plasmid A of 6165RΔ*tal22B* was deleted of *tal22B* (**f**).

RESULTS

Phenotyping of strains with different degrees of pathogenicity

For both inoculation methods, more severe symptoms appeared after inoculation of strain 6546R than strain 6165R (Fig. 1). However, statistical disctinction between strains was better using rub-inoculation with MLI (p-value < 0.001) than dip-inoculation with CFI (p-value > 0.05). At least two factors could explain the differences observed between both methods.

First, the inoculation method itself appeared as playing a major role in the homogeneity of the symptoms. Indeed, dip inoculation of trifoliates led to symptoms developing mainly from the margins, being unevenly distributed over the leaflets and evolving into more or less extended patches hardly distinguishable for leaves inoculated by one strain or the other (Fig. 2). Moreover, the occurrence of symptoms was stochastic as symptoms did not appear evenly on all leaflets of the same leaf, meaning that the variability between leaflets was even higher than between individuals in some cases (not shown). In contrast, symptoms were clearly distinguishable between both strains after rub inoculation (Fig. 2). For strain 6165R, symptoms appeared as tiny spots evenly distributed across the whole inoculated area, likely caused by bacteria entering through openings corresponding to trichomes damaged by the rubbing. For strain 6546R most of the spots coalesced, leading to large symptomatic areas.

Second, the analysis of images could also explain the differences observed between both methods. Indeed, images obtained by the CFI camera had lower resolution (512 × 512 pixels) than that of images obtained using a regular camera (5,184 × 3,456 pixels). Thus, detection of very small symptoms could be skipped by CFI due to a lack of accuracy.

Description of *tal* mutants

To further evaluate the discriminating power of each symptom assessment method, we constructed two deletion mutants of *tal* genes named 6546RΔ*tal18H* and 6165RΔ*tal22B*. Both 6546RΔ*tal18H* and 6165RΔ*tal22B* were unable to produce TAL18H or TAL22B proteins, respectively (Fig. 3A and B). PacBio SMRT sequencing allowed us to compare the sequence of the mutants to the corresponding wild-type strains. In both cases, an average nucleotide identity of 99.99% was found between the wild-type strains and their mutants.

However, annotation predicted less CDS for the *tal* mutants than the wild-type strains. Indeed, 4,407 CDS were predicted for 6165RΔ*tal22B*, which is five CDS less than for 6165R, and 4,685 CDS were predicted for 6546RΔ*tal18H*, which is 116 CDS less than for strain 6546R (Ruh *et al.*, 2017). These results indicate that more or less important deletions occurred outside of the region targeted for *tal* mutagenesis. However, these deletions had no major effect on the bacterial growth of the mutants compared to the wild-type strains in TSA10 medium (Fig. 3C and D).

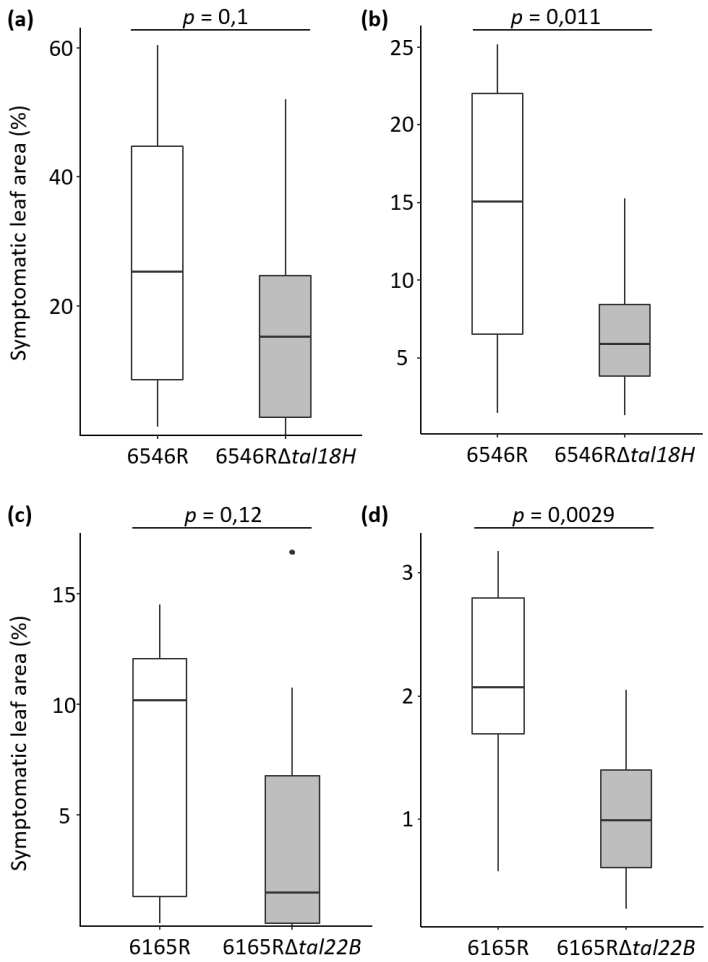


Figure 4. Evaluation of the symptoms caused by *tal* mutant strains. Images were taken at 14 days post inoculation, and *p*-values were calculated by Mann-Whitney test. Pathogenicity of 6546RΔ*tal18H* and 6165RΔ*tal22B* was compared to that of the corresponding wild-type strains 6546R (**a**, **b**, n = 16) or 6165R (**c**, **d**, n = 10), respectively. Evaluation of symptoms by chlorophyll fluorescence imaging on first trifoliate leaves inoculated by dipping (**a**, **c**), or by machine learning-based imaging on first leaves inoculated by rubbing (**b**, **d**).

Table 1. List of predicted CDS in the two deleted regions of 6546RΔ*tal18H*.

Region	CDS	Start[a]	End	Predicted functions by BLASTp onNCBI
n°1 start: 11,004 end: 16,398	*plasmidC_01*	11,131	11,382	hypothetical protein [*X. phaseoli*]
	plasmidC_02	11,703	12,164	hypothetical protein [*Pedobacter hartonius*]
	plasmidC_03	14,449	13,606	hypothetical protein ADT27_10060, partial [*X. oryzae*]
	plasmidC_04	15,993	16,439	hypothetical protein NZ02_10555 [*Xpp*]
	tal18H	11,783	15,289	Avirulence protein AvrBs3 [*Xcf*]
n°2[b] start: 63,522 end: 68,879	*plasmidC_01'*	63,650	63,901	hypothetical protein [*X. phaseoli*]
	plasmidC_02'	64,210	64,680	hypothetical protein [*Pedobacter hartonius*]
	plasmidC_05	64,623	65,576	hypothetical protein NY98_21590, partial [*Xcf*]
	plasmidC_03'	66,402	66,115	hypothetical protein ADT27_10060, partial [*X. oryzae*]

[a]Start and end correspond to coordinates of the region or gene according to the reference plasmid from the wt strain.
[b] Region n°2 contains the pseudogene *tal18H** (not mentioned here as it was not annotated as a CDS).

As described before, both *tal22B* and *tal18H* are located on plasmids (Ruh *et al.*, 2017). In strain 6165RΔ*tal22B*, analysis of plasmid A showed that the deletion was restricted to a 3,915 bp region containing *tal22B* (Fig. 3F). In strain 6546R, the situation was more complex as plasmid C contained *tal18H* as well as a pseudogenized paralog of *tal18H* named *tal18H** (Ruh *et al.*, 2017). Two deleted regions of nearly 5,400 bp were observed in 6546R*Δtal18H* (Fig. 3E, Table 1). Each region contained *tal18H* or *tal18H** plus four CDS encoding hypothetical proteins. These two deleted regions were flanked by insertion sequences (IS), suggesting that these deletions occurred through recombination between IS (not shown). Therefore, 6546RΔ*tal18H* corresponded to a variant of strain 6546R presenting a spontaneous deletion of *tal18H* and *tal18H** genes on plasmid C.

Virulence evaluation of wild-type and mutant strains

With both methods, the mutant strains presented lower symptoms than the corresponding wild-type strains, suggesting that *tal18H* and *tal22B* were involved in the pathogenicity of 6546R and 6165R, respectively (Fig. 4). However, rub-inoculation with MLI significantly discriminated the two mutant strains from the corresponding wild-type strains (p-value < 0.05), while dip-inoculation with CFI did not (p-value > 0.1). Interestingly, the accuracy of rub-inoculation followed by MLI was high enough to discriminate between strains presenting very low aggressiveness. Indeed, only 2% or 1% of the total leaf pixels corresponded to symptoms after inoculation with 6165R or 6165RΔ*tal22B*, respectively, which further demonstrated the discriminative power of this method.

DISCUSSION

Our study demonstrated that rub-inoculation on first leaves combined with MLI represents a fast, simple and efficient way to quantify the fine symptom differences existing between strains differing by only few genes. The two *tal* mutant strains constructed here induced less symptoms than the wild-type strains, suggesting that TAL18H and TAL22B participate in the pathogenicity of strains 6546R and 6165R, respectively. However, cloning of *tal* genes and complementation of these strains is needed to confirm the role of these TALEs, especially because genes other than *tal* were missing in the mutant strains.

In addition to the gain of discriminating power, the rub-inoculation method presented several other advantageous characteristics compared to dip-inoculation. First, the time required to carry out a trial was reduced (Table 2). Indeed, the use of first leaves instead of first trifoliates saved one week of plant growing time, leading to a 22-day trial instead of a month. In addition, the average time per plant for dip-inoculation was three times longer (150 s per plant) than rub-inoculation (43 s per plant), as it required more handling time and a 30-second immersion of the leaf in the bacterial suspension.

Table 2. Characteristics of pathogenicity tests.

	Trifoliate dipping + CFI[a]	**First leaf rubbing + MLI[b]**
Discriminating power	Poor	Good
Detection of non-visible symptoms	Yes	No
Plant growing time	15 days	8 days
Symptom assessment date	14 days post inoculation	14 days post inoculation
Duration of a trial	29 days	22 days
Average time of inoculation per plant	150 seconds	43 seconds
Average image taking time per plant	327 seconds	90 seconds
Plants with homogeneous leaves	84%	93%
Volume per inoculum	500 mL	25 mL
Equipment	PSI Open FluorCam FC 800-O or equivalent	Light table and camera
Image analysis software	Phenoplant	Ilastik

[a]CFI: chlorophyll fluorescence imaging
[b]MLI: machine learning-based imaging

The shooting of plants in chlorophyll fluorescence was also more than three time longer (327 s per plant) than RGB picture taking (90 s per plant), mainly because three images per plants (one per trifoliate) were taken by CFI, while MLI was done with one image per plant. Moreover, the growth of first leaves was often more homogeneous than that of first trifoliate leaves. Consequently, for a same number of plants sown, more can be used for a pathogenicity test on first leaves than trifoliates. Furthermore, the volume of inoculum required was 20 times less for rub-inoculation than dip-inoculation. Therefore, less material was needed for rub-inoculation and the waste was easier to process. Finally, MLI requires simple materials such as a digital camera, a tripod and a LED table, which can be afforded quite easily. On the other hand, CFI requires a complete fluorescence imaging system that is much more expensive to purchase and maintain. During trials under controlled greenhouse conditions, the space available is often limited, and a gain of time and usable plants gives the possibility to test more modalities in less time.

Although the method developed here presents many advantages for symptom quantification, it is important to note that chlorophyll fluorescence imaging is able to detect non-visible symptoms resulting from a disruption of photosynthesis during the early stages of infection and has a potential to discriminate between strains differing by a single gene (Méline *et al.*, 2020). The future development of pipelines combining different phenotyping methods will undoubtedly contribute to analyze more in-depth the complex contributions of single or multiple genes to the virulence of plant pathogens.

ACKNOWLEDGMENTS

We warmly thank Céline Rousseau and Guillaume Lebreton from the PHENOTIC platform (IRHS, Beaucouzé, France) for their help in the analysis of chlorophyll fluorescence images, Daniel Sochard (IRHS, Beaucouzé, France) for technical help for *in planta* experiments, Armelle Darrasse (IRHS, Beaucouzé, France) for valuable advices during *tal* mutagenesis, and Ivanna Fuentes, Corinne Audran, Laurent Noël (LIPME, Toulouse, France) for contributing an anti-TALE antibody. The authors also thank the French Network on Xanthomonads (FNX) (https://www.reseau-xantho.org/) for recurrent scientific exchanges and methods sharing.

This study was supported by the French National Research Agency CROpTAL project (ANR-14-CE19–0002-04). JF was funded by a PhD grant (BRUTAL project) from the French National Research Institute for Agriculture (INRAE) and the region Pays de la Loire, France. MR was funded by a PhD grant (X-HOT project) from Angers-Loire Metropole, France. The funding bodies did not participate in any of the study design, data collection and analysis, or writing the manuscript.

PacBio sequencing was performed at Icahn School of Medicine at Mount Sinai (NY, USA) under the supervision of Robert Sebra, and preliminary quality control of DNA was performed

at the ANAN platform from the SFR 4207 QUASAV (Angers, France). Bacterial strain preservation and supply was ensured by the CIRM-CFBP (Beaucouzé, INRA, France).

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data and materials that support the findings of this study (Ilastik training file and bacterial strains) are available from the corresponding author upon request.

REFERENCES

Aggour, A.R., Coyne, D.P., and Vidaver, A.K. (1989) Comparison of leaf and pod disease reactions of beans (Phaseolus vulgaris L.) inoculated by different methods with strains of Xanthomonas campestris pv. Phaseoli (Smith) dye. Euphytica 43, 143–152. doi:10.1007/BF00037907.

Berg, S., Kutra, D., Kroeger, T., Straehle, C.N., Kausler, B.X., Haubold, C., *et al.* (2019) Ilastik: Interactive Machine Learning for (Bio)Image Analysis. Nat. Methods 16, 1226–1232. doi:10.1038/s41592-019-0582-9.

Boch, J., and Bonas, U. (2010) Xanthomonas AvrBs3 family-type III effectors: discovery and function. Annu. Rev. Phytopathol. 48, 419–436. doi:10.1146/annurev-phyto-080508-081936.

Bock, C.H., Parker, P.E., Cook, A.Z., and Gottwald, T.R. (2008) Visual rating and the use of image analysis for assessing different symptoms of citrus canker on grapefruit leaves. Plant Dis. 92, 530–541. doi:10.1094/PDIS-92-4-0530.

Bock, C.H., Poole, G.H., Parker, P.E., and Gottwald, T.R. (2010) Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. CRC. Crit. Rev. Plant Sci. 29, 59–107. doi:10.1080/07352681003617285.

Büttner, D., and Bonas, U. (2010) Regulation and secretion of Xanthomonas virulence factors. FEMS Microbiol. Rev. 34, 107–133. doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00192.x.

Cafati, C.R., and Seattler, A.W. (1980) Effect of Host on Multiplication and Distribution of Bean Common Blight Bacteria. Phytopathology 70, 675. doi:10.1094/phyto-70-675.

Chin, C.S., Alexander, D.H., Marks, P., Klammer, A.A., Drake, J., Heiner, C., *et al.* (2013) Nonhybrid, finished microbial genome assemblies from long-read SMRT sequencing data. Nat. Methods 10, 563–569. doi:10.1038/nmeth.2474.

Constantin, E.C., Cleenwerck, I., Maes, M., Baeyen, S., Van Malderghem, C., De Vos, P., *et al.* (2016) Genetic characterization of strains named as Xanthomonas axonopodis pv. dieffenbachiae leads to a taxonomic revision of the X. axonopodis species complex. Plant Pathol. 65, 792–806. doi:10.1111/ppa.12461.

Duncan, R.W., Singh, S.P., and Gilbertson, R.L. (2011) Interaction of Common Bacterial Blight Bacteria with Disease Resistance Quantitative Trait Loci in Common Bean. Phytopathology 101, 425–435. doi:10.1094/PHYTO-03-10-0095.

Foucher, J., Ruh, M., Préveaux, A., Carrère, S., Pelletier, S., Briand, M., *et al.* (2020) Common bean resistance to Xanthomonas is associated with upregulation of the salicylic acid pathway and downregulation of photosynthesis. BMC Genomics 21, 1–18. doi:10.1186/s12864-020-06972-6.

Goodwin, P.H., and Sopher, C.R. (1994) Water Stress in Leaves of Pbaseolus vulgaris Infected with Xanthomonas campestris pv. phaseoli. J. Phytopathol. 140, 219–226. doi:10.1111/j.1439-0434.1994.tb04811.x.

Grant, J.R., Arantes, A.S., and Stothard, P. (2012) Comparing thousands of circular genomes using the CGView Comparison Tool. BMC Genomics 13, 1. doi:10.1186/1471-2164-13-202.

Ilett, M., Wills, J., Rees, P., Sharma, S., Micklethwaite, S., Brown, A., *et al.* (2020) Application of automated electron microscopy imaging and machine learning to characterise and quantify nanoparticle dispersion in aqueous media. J. Microsc. 279, 177–184. doi:10.1111/jmi.12853.

Koren, S., Walenz, B.P., Berlin, K., Miller, J.R., Bergman, N.H., and Phillippy, A.M. (2017) Canu: scalable and accurate long-read assembly via adaptive k-mer weighting and repeat separation. Genome Res. 27, 722–736. doi:10.1101/gr.215087.116.

Mahlein, A.-K. (2016) Present and Future Trends in Plant Disease Detection. Plant Dis. 100, 1–11. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2.

Méline, V., Brin, C., Lebreton, G., Ledroit, L., Sochard, D., Hunault, G., *et al.* (2020) A Computation Method Based on the Combination of Chlorophyll Fluorescence Parameters to Improve the Discrimination of Visually Similar Phenotypes Induced by Bacterial Virulence Factors. Front. Plant Sci. 11, 1–14. doi:10.3389/fpls.2020.00213.

Mkandawire, A.B.C., Mabagala, R.B., Guzmán, P., Gepts, P., and Gilbertson, R.L. (2004) Genetic diversity and pathogenic variation of common blight bacteria (Xanthomonas campestris pv. phaseoli and X. campestris pv. phaseoli var. fuscans) suggests pathogen coevolution with the common bean. Phytopathology 94, 593–603. doi:10.1094/PHYTO.2004.94.6.593.

Nutter, F.W., Esker, P.D., and Netto, R.A.C. (2006) Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease data. Eur. J. Plant Pathol. 115, 95–103. doi:10.1007/s10658-005-1230-z.

Ojeda-Martinez, D., Martinez, M., Diaz, I., and Santamaria, M.E. (2020) Saving time maintaining reliability: a new method for quantification of Tetranychus urticae damage in Arabidopsis whole rosettes. BMC Plant Biol. 20, 397. doi:10.1186/s12870-020-02584-0.

Olmstead, J.W., Lang, G.A., and Grove, G.G. (2001) Assessment of severity of powdery mildew infection of sweet cherry leaves by digital image analysis. HortScience 36, 107–111. doi:10.21273/hortsci.36.1.107.

Opio, A.F., Teri, J.M., and Allen, D.J. (1993) Studies of seed transmission of Xanthomonas campestris pv phaseoli in common bean in uganda. African Crop Sci. J. 1, 59–67.

Pastor-Corrales, M.A., Beebe, S.E., and Corree, F.J. (1981) Comparing 2 Inoculation Techniques for Evaluating Resistance in Beans to Xanthomonas campestrís. Cent. Int. Agric. Trop., 193–503.

Pike, J.A., Simms, V.A., Smith, C.W., Morgan, N.V., Khan, A.O., Poulter, N.S., *et al.* (2020) An adaptable analysis workflow for characterization of platelet spreading and morphology. Platelets 7104. doi:10.1080/09537104.2020.1748588.

Poland, J.A., and Nelson, R.J. (2010) In the eye of the beholder: The effect of rater variability and different rating scales on QTL mapping. Phytopathology 101, 290–298. doi:10.1094/PHYTO-03-10-0087.

Popovic, T., Starovic, M., Aleksic, G., Zivkovic, S., Josic, D., Ignjatov, M., *et al.* (2012) Response of different beans against common bacterial blight disease caused by Xanthomonas axonopodis PV. phaseoli. Bulg. J. Agric. Sci. 18, 701–707.

Pritchard, L., Glover, R.H., Humphris, S., Elphinstone, J.G., and Toth, I.K. (2016) Genomics and taxonomy in diagnostics for food security: Soft-rotting enterobacterial plant pathogens. Anal. Methods 8, 12–24. doi:10.1039/c5ay02550h.

Rashid, R., Gaglia, G., Chen, Y.A., Lin, J.R., Du, Z., Maliga, Z., *et al.* (2019) Highly multiplexed immunofluorescence images and single-cell data of immune markers in tonsil and lung cancer. Sci. data 6, 323. doi:10.1038/s41597-019-0332-y.

Rousseau, C., Belin, E., Bove, E., Rousseau, D., Fabre, F., Berruyer, R., *et al.* (2013) High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. Plant Methods 9, 17. doi:10.1186/1746-4811-9-17.

Rousseau, C., Hunault, G., Gaillard, S., Bourbeillon, J., Montiel, G., Simier, P., *et al.* (2015) Phenoplant: A web resource for the exploration of large chlorophyll fluorescence image datasets. Plant Methods 11, 24. doi:10.1186/s13007-015-0068-4.

Ruh, M., Briand, M., Bonneau, S., Jacques, M., and Chen, N.W.G. (2017) Xanthomonas adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. BMC Genomics 18, 1–18. doi:10.1186/s12864-017-4087-6.

Sallet, E., Gouzy, J., and Schiex, T. (2014) EuGene-PP: A next-generation automated annotation pipeline for prokaryotic genomes. Bioinformatics 30, 2659–2661. doi:10.1093/bioinformatics/btu366.

Schäfer, A., Tauch, A., Jsger, W., Kalinowski, J., Thierbachb, G., and Piihler, A. (1994) Small mobilizable multi-purpose cloning vectors derived from the Escherichia coli plasmids pK18 and pK19: selection of defined deletions in the chromosome of Corynebacterium glutumicum. Gene 145, 49–5201.

Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., *et al.* (2012) Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. Nat. Methods 9, 676–682. doi:10.1038/nmeth.2019.

Singh, S.P., and Miklas, P.N. (2015) Breeding common bean for resistance to common blight: A review. Crop Sci. 55, 971–984. doi:10.2135/cropsci2014.07.0502.

Vidaver, A.K. (1993) Xanthomonas campestris pv. phaseoli: cause of common bacterial blight of bean. J. G. Swin. , ed. U. C. & H. London.

Xie, W., Yu, K., Pauls, K.P., and Navabi, A. (2012) Application of image analysis in studies of quantitative disease resistance, exemplified using common bacterial blight-common bean pathosystem. Phytopathology 102, 434–442. doi:10.1094/PHYTO-06-11-0175.

Yu, K., Shi, C., and Zhang, B. (2012) Development and Application of Molecular Markers to Breed Common Bean (Phaseolus vulgaris L .) for Resistance to Common Bacterial Blight (CBB) Appl. Photosynth., 365–388.

Zapata, M. (2006) A proposal for a uniform screening procedure for the reennhouse evalualtion of variability of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and resistance on leaves of Phaseolus vulgaris. Annu. Rep. Bean Improv. Coop., 213–214.

Zaumeyer, W.J., and Thomas, H.R. (1957) A monographic study of bean diseases and methods for their control. Tech. Bull. 169625, United States Dep. Agric. Econ. Res. Serv.

Table S1. List of primers used for *tal* mutagenesis.

Name	Sequence	Amplicon length (bp)
6165-2R	TTTGGTCTCACATATAGGCATACCTGTTTATAGAAA	785
6165-1Fb	TTTGGTCTCAAGGTCTAACCAAGTAAATCAGC	
6165-2F	TTTGGTCTCATATGGGCCCAGTCGGGAACGAC	788
6165-3Rb	TTTGGTCTCACTTGCTTGTGGGATGTGCTGTTCATGG	
6165-2R	TTTGGTCTCACATATAGGCATACCTGTTTATAGAAA	530
6546R-1Fb	TTTGGTCTCAAGGTGAAGGTCTGAACAACGATG	
6165-2F	TTTGGTCTCATATGGGCCCAGTCGGGAACGAC	530
6546R-3Rb	TTTGGTCTCACTTGGACAGCGAGGACGAGGAC	

3. Discussion et perspectives

Ces travaux ont permis d'acquérir une méthodologie efficace pour évaluer et comparer le pouvoir pathogène de différentes souches de *Xpp-Xcf*. Grace à cette méthodologie, j'ai pu mener à bien les différents tests de pouvoir pathogène prévus dans ce projet de thèse. Ainsi, nous avons pu comparer l'agressivité de différentes souches de *Xpp-Xcf*, mettre en évidence l'implication de deux effecteurs TAL (TAL18H et TAL23A) dans l'agressivité de ces souches et valider ou invalider l'implication de cibles potentielles d'effecteurs TAL dans l'agressivité de *Xpp-Xcf*. Tous ces résultats sont présentés dans les chapitres 3 et 4 suivants.

Cette méthodologie sera utilisée pour étudier l'implication des effecteurs TAL20F et TAL18G dans l'agressivité des souches *Xpp* de la lignée génétique NF2 et valider leurs cibles (travaux en cours). L'étude de TAL20F et TAL18G est actuellement en cours par Sophie Bonneau.

Suite à ces travaux, un nouveau projet de thèse sera conduit par Charlotte Gaudin à partir de novembre 2020 et a pour objectif de développer de nouveaux moyens de résistance à *Xpp-Xcf* à l'aide des effecteurs TAL. Des essais préliminaires ont montré que la résistance observée chez BAT93 était toujours effective avec la méthode d'inoculation mise au point dans ce chapitre. Cette méthodologie pourrait donc être appliquée pour évaluer la résistance induite par des souches portant un effecteurs TAL induisant un gène de résistance chez JaloEEP558.

Enfin, à plus large échelle, la publication de l'article présenté permettra d'apporter de nouvelles solutions face aux difficultés que peux présenter le phénotypage, notamment dans le cas de l'étude des ET3.

Chapitre 3 :
Découverte de la cible de XfuTAL1

1. Préambule

Pour comprendre le rôle des effecteurs TAL dans l'interaction haricot-*Xanthomonas,* il est nécessaire de trouver les gènes cibles de ces effecteurs. L'effecteur TAL *Xfutal1* est présent chez toutes les souches *Xpp-Xcf* sous la forme de six allèles différents, ce qui suggère que cet effecteur jouerait un rôle important chez ces souches. C'est pourquoi nous avons cherché à comprendre le rôle de *Xfutal1* en découvrant sa cible dans le génome du haricot. Les résultats de ces recherches sont résumés dans l'article suivant, qui sera soumis courant 2021. La version incluse dans ce chapitre nécessite encore un travail de mise en forme et la description de l'anticorps utilisé pour les western blot devra être ajoutée.

Dans cet article, j'ai participé à la conception des expériences avec l'aide de Marie-Agnès Jacques et Nicolas Chen. J'ai mené les tests de pouvoir pathogène et les RT-qPCR, ainsi qu'une grande partie des analyses, produit la majorité des figures et rédigé la première version du manuscrit. Pour obtenir ces résultats, Sophie Bonneau et Charlotte Gaudin m'ont aidé durant les tests de pouvoir pathogène. Nicolas Chen a généré les prédictions des cibles des différents allèles de *Xfutal1,* tandis que Charlotte Gaudin, que j'ai encadrée durant son stage de master 1, a construit les dTALE-AIL1 et mené des RT-qPCR. Les autres dTALE similaires aux allèles *Xfutal1* ont été construits par Mylène Ruh, et complémentés par Sophie Bonneau. Nicolas Chen a construit l'arbre phylogénétique des AP2, tandis que Martial Briand a mené les analyses du répertoire d'effecteurs des différentes souches. Les western blot présentés ont été générés lors d'une formation que j'ai suivie à Toulouse, avec l'aide de Corinne Audran, David Belhaddad et Laurent Noël. Marie-Agnès Jacques et Nicolas Chen ont participé à la rédaction de cet article.

2. TALE-induced *AINTEGUMENTA-like 1* promotes common bacterial blight of bean.

Justine Foucher[1], Mylène Ruh[1], Sophie Bonneau[1], Charlotte Gaudin[1], Martial Briand[1], Ivanna Fuentes[2], Corinne Audran[2], Laurent Noël[2], Marie-Agnès Jacques[1] and Nicolas W. G. Chen[1*].

[1]IRHS, INRAE, AGROCAMPUS OUEST, Université d'Angers, SFR4207 QUASAV, 42, rue Georges Morel, F-49071 Beaucouzé, France.

[2]LIPM, Université de Toulouse, INRAE, CNRS, Université Paul Sabatier, Castanet-Tolosan, France.

*Corresponding author

Justine Foucher: justine.foucher@inrae.fr

Mylène Ruh: mylene.ruh@inrae.fr

Sophie Bonneau : sophie.bonneau@inrae.fr

Charlotte Gaudin : charlotte.gaudin@inrae.fr

Martial Briand: martial.briand@inrae.fr

Ivanna Fuentes : ivanna.fuentes@inrae.fr

Corinne Audran : Corinne.Audran@inra.fr

Laurent Noël : laurent.noel@inrae.fr

Marie-Agnès Jacques: marie-agnes.jacques@inrae.fr

Nicolas W.G. Chen: nicolas.chen@agrocampus-ouest.fr

ABSTRACT

Xanthomonas spp. carry special type III effectors, called transcription activator-like effectors (TALEs), which are able to induced susceptibility (*S*) genes to promote infection. The *tal* gene *Xfutal1* is present in all *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (*Xpp*) and *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* (*Xcf*) strains responsible for common bacterial blight of bean, and exists in six allelic versions. To analyse the role of each *Xfutal1* allele, we evaluated the aggressiveness of *tal* mutant strains complemented with each allele and we validated the target gene of *Xfutal1* alleles using prediction software and designer TALE. First, we noted that *Xfutal1* alleles present in *Xcf* increased considerably aggressiveness, while *Xfutal1* alleles present in *Xpp* slightly increased aggressiveness. However, the aggressiveness of the strains was not only explained by the presence of certain alleles. In addition, prediction software highlighted a potential common target to several alleles, that was confirmed by RT-qPCR. This target is a homologue of the transcription factor AINTEGUMENTA-LIKE 1 (*PvAIL1*). Voluntary induction of this gene by three dTALEs strongly increased the aggressiveness of *tal* mutant strain, thus validated that *PvAIL1* is an *S* gene induced by *Xfutal1* alleles to enhance aggressiveness. This study highlights the first *S* gene in common beans induced by a TALE of *Xpp-Xcf.*

KEYWORDS : TAL effectors, Susceptibility gene, Common bean, *Xanthomonas.*

INTRODUCTION

Xanthomonas citri pv. *fuscans* (*Xcf*) and *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (*Xpp*) are the causal agents of common bacterial blight of bean (CBB), a major disease of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) worldwide, causing yield losses up to 45 % (Chen *et al.* in prep; Constantin *et al.*, 2016). CBB agents are distributed across four genetic lineages (GLs) (Alavi *et al.*, 2008). GL fuscans, GL2 and GL3 belong to *Xcf* while GL1 belongs to *Xpp*. Although being genetically distant, *Xpp* and *Xcf* strains produce identical symptoms on common bean. This pathological convergence is associated with horizontal transfers involving dozens of genes shared among the four *Xpp-Xcf* lineages (Aritua *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2018). Significantly these horizontal transfers involved genes encoding transcription activator-like effectors (TALEs) (Ruh *et al.*, 2017).

TALEs are type III effectors able to manipulate the plant transcriptome, and contribute to the pathogenicity of many *Xanthomonas* species (Boch and Bonas, 2010; Xue *et al.*, 2020). After injection within the plant cell *via* the type III secretion system, TALEs are transported to the nucleus where they bind to specific DNA sequences called effector-binding elements (EBE) and activate transcription (Kay *et al.*, 2007; Römer *et al.*, 2007; Szurek *et al.*, 2001). EBEs are generally located in the promoter of susceptibility (*S*) genes whose induction by TALEs promotes symptom development (Hu *et al.*, 2014; Schwartz *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2006). Alternatively, TALEs may activate an *executor* resistance gene, leading to the induction of plant defenses (Bogdanove *et al.*, 2010; Gu *et al.*, 2005).

To date *S* genes have been characterized in a few plant species including pepper, rice, citrus, tomato, cassava and cotton (Boch *et al.*, 2014; Perez-Quintero and Szurek, 2019). A well-described susceptibility hub consists of genes encoding sugar transporters from the SWEET family that are targeted by TALEs from rice, citrus, cotton and cassava pathogens (Cohn *et al.*, 2014; Cox *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2014; Streubel *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2006). Transcription factors appear as another susceptibility hub for *Xanthomonas* pathogens of rice, citrus and tomato (Li *et al.*, 2014b; Schwartz *et al.*, 2017; Sugio *et al.*, 2007; Tran *et al.*, 2018). Genes encoding sulphate transporter and dioxygenase can also be overexpressed by TALEs to promote infection (Abe and Benedetti, 2016; Cernadas *et al.*, 2014; Peng *et al.*, 2019).

Promising strategies have been proposed for exploiting the TALE-EBE system to engineer disease resistance in crops (Boch *et al.*, 2014; Schornack *et al.*, 2013). For example, mutation of an EBE can prevent TALE-EBE binding, leading to the absence of *S* gene induction and to resistance by loss of susceptibility (Blanvillain-Baufumé *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2012), while introducing EBEs in the promoter region of an *executor* gene can be an efficient way to trap TALEs to induce plant defences (Hummel *et al.*, 2012; Hutin *et al.*, 2016; Zeng *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2015). For both strategies, a prerequisite is to characterize the binding specificity of TALEs of pathogens of interest.

TALE binding specificity resides in their central repeat region, which is composed of nearly identical tandem repeats, usually ranging from 33 to 35 amino acids (Mak *et al.*, 2012). Within a repeat, the residues located at positions 12 and 13 are hypervariable and thus called repeat variable di-residues (RVDs). Each RVD is able to interact with a single nucleotide following a specific code (Boch *et al.*, 2009; Moscou and Bogdanove, 2009; Yang *et al.*, 2014). Therefore, the sequence of successive RVDs in a TALE determines the sequence of nucleotides of the corresponding EBE. The TALE code led the development of bioinformatics tools able to search for putative EBEs within plant genomes (Doyle *et al.*, 2012; Grau *et al.*, 2013; Kremer *et al.*, 2019; Pérez-Quintero *et al.*, 2013), which has been a substantial help for discovering novel *S* genes.

In *Xpp-Xcf*, we have previously identified four TALE-encoding genes named *Xfutal1* to *Xfutal4* (Ruh *et al.*, 2017). Interestingly, *Xfutal1* was present in all *Xpp-Xcf* strains studied so far across the four genetic lineages, suggesting that XfuTAL1 may play an important role in the aggressiveness of CBB agents. Furthermore, the deletion of *Xfutal1* can lead to a loss of aggressiveness (Foucher *et al.* in prep). We described six *Xfutal1* alleles each having a different RVD sequence, raising the question as to whether they all target the same *S* gene or not. Alleles *tal23A*, *tal22B* and *tal22C* were specifically retrieved in *Xcf* strains, while *tal21D*, *tal19E* and *tal19I* belonged to *Xpp*. In this study, we analyzed the contribution of each *Xfutal1* allele to aggressiveness, and searched for an *S* gene targeted by these TALEs.

MATERIALS AND METHODS

Bacterial strains and growth conditions

Xanthomonas strains used in this study are listed in Table S1. *Xanthomonas* strains were grown at 28°C for 48 h on Trypticase Soy Agar (TSA) medium (17.0 $g.L^{-1}$ pancreatic digest of casein; 3.0 $g.L^{-1}$ enzymatic digest of soya bean; 5.0 $g.L^{-1}$ NaCl; 2.5 $g.L^{-1}$ K_2HPO_4; 2.5 $g.L^{-1}$ glucose; 15 $g.L^{-1}$ agar), then at 28°C for 24 h on TSA10 (a 1/10 dilution of TSA, except for agar maintained at 15 $g.L^{-1}$) to obtain fresh bacterial cultures. Selection was done using rifamycin at 50 $mg.L^{-1}$ or gentamicin at 20 $mg.L^{-1}$.

TALE target predictions

EBE were identified using the *in silico* prediction tools Target Finder (Doyle *et al.*, 2012) and TALVEZ version 3.2 (Pérez-Quintero *et al.*, 2013) with default settings. Predictions were performed on the JaloEEP558 promoterome consisting of the 3 kbp region upstream of each annotated genes. Results were then sorted to retain only predicted EBEs located on the plus strand and within 200 bp upstream of each gene.

Construction of designer TALEs (dTALEs)

The different dTALEs RVD sequences are listed in Table S2. The *PvAIL1* promoter sequence was analyzed using TALE-NT v.2.0 (Doyle *et al.*, 2012) to optimize the binding efficiency of dTALEs outside of the predicted

EBE. Binding specificity was checked by BLASTN analysis on the genome of JaloEEP558 (Foucher *et al.*, 2020) and by using TALVEZ v.3.0 (Pérez-Quintero *et al.*, 2013) on the promoterome consisting of the 3 kb upstream of all predicted genes. All dTALEs were constructed using the Golden TAL technology (Geißler *et al.*, 2011) and expressed in the Golden Gate-compatible vector pSKX1 (Streubel *et al.*, 2013). Expression constructs harbored the N-terminal and C-terminal regions from Hax3 of *X. campestris* pv. *armoraciae* (Kay *et al.*, 2005) as well as a C-terminal FLAG epitope.

Complementation of the mutant strain 6165RΔ*tal22B* was performed by electroporation of the different dTALE constructions or the empty vector pSKX1 for 5 ms at 2 kV. Plasmids were extracted using the NucleoSpin Plasmid kit (Macherey-Nagel, Hoerdt, France). Validation of the constructs was done by checking NdeI and HindIII digestion profiles after electrophoresis, and by DNA sequencing using primers pSEQ2843R_(3>R): AACCACTTGCGCGTGGTCGGCAAC and 300seq695F_(5>R): TGGTCCGGCGCACGCGCTCTGGAG. For dTALEs corresponding to *Xfutal1* alleles, protein production was verified by Western Blot (Fig. S1). Briefly, total proteins were extracted from 0.4 mL of overnight bacterial suspensions and migrated by Sodium Dodecyl Sulfate - Polyacrylamid Gel Electrophoresis (SDS-PAGE), then immunoblotted with a primary anti-TALE antibody. Second, to check the influence of deletion on the growth capacity of the mutants, bacterial growth control was performed. For this, liquid cultures at initial

concentration of 1 × 10^6 cfu.mL^{-1} were prepared in TSA10 broth, and the absorbance (λ = 600nm) was monitored every 8 or 30 min using a Labsystem Bioscreen C system, over an incubation period of 35 h at 28°C under shaking at 200 rpm. Each strain was controlled with biological duplicates (Fig. S2).

Plant material and growth conditions

The original seeds from common bean cultivar JaloEEP558 were obtained from the Center for Tropical Agriculture (CIAT, Colombia) and are available under accession number G9603 (http://genebank.ciat.cgiar.org/genebank/main.do). JaloEEP558 (susceptible to CBB, Foucher *et al.*, 2020; Nodari *et al.*, 1993) was seeded in plastic pots (7 × 7 × 8 cm) containing pre-wetted soil. Plants were grown in a growth chamber at 23°C/20°C (day/night) with a relative humidity of 80 % and a photoperiod of 16 h. Plants were watered every two days with water for the first seven days and then with a nutrient solution of N-P-K (15-10-30). The day before inoculation, relative humidity and temperature were increased at 95 % and 28°C/25°C (day/night) to provide adequate conditions for infection. On the third day after inoculation, humidity was reduced to 80% until the end of the assay.

Pathogenicity tests

Pathogenicity assays were performed following the method developed by (Foucher *et al.* in prep). Briefly, inoculations were done by rubbing first leaves of 8-days-old plants with bacterial suspensions at 1×10^7 cfu.mL^{-1} or water. Symptom assessment was carried out at 14 dpi by machine learning- trained imaging using ilastik v.1.3.3 followed by Fiji (Berg *et al.*, 2019). The quantity of symptoms was expressed in square root of cm² of symptomatic leaf using a scale on each RGB image. Bacterial populations were assessed at 14 dpi by sampling four discs with a 1.3 cm diameter borer in the rubbed area. Discs were ground for 2 min in 4 mL of distilled water (Stomacher 80; Seward, London, United Kingdom). Appropriate dilutions of the samples were plated on TSA10 medium supplemented with the appropriate antibiotics and incubated at 28°C for 72 h before counting colony-forming units (cfu).

RNA isolation and RT-qPCR

Trifoliate leaves of two-week-old JaloEEP558 plants were vacuum-infiltrated for 2 × 1 min with distilled water or with bacterial suspensions at 1 × 10^8 cfu.mL^{-1}. The infiltrated leaflets were maintained in Petri dishes by dipping the petiole in water agar (0.7 %) and incubated at 28°C/25°C (day/night) with a photoperiod of 16 h. Forty-eight hours after inoculation, 6 discs of 1.3 cm diameter were sampled and immediately frozen in liquid nitrogen. Frozen discs were ground using a ball mill for 30 s at 25 Hz. Total RNA was extracted with the TRIzol® Plus RNA Purification Kit (Ambion, Applied Biosystems, Courtaboeuf, France) according to manufacturer's recommendations, except that TRIzol® was used at 60°C and that an additional DNase treatment was performed.

For each sample, cDNAs were synthetized from the total RNA using oligo (dT)15 primer with the M-MLV reverse transcriptase (Promega, Madison, WI, USA) according to manufacturer's

recommendations. RT-qPCR primers were designed using Primer3 (Untergasser *et al.*, 2012) and checked for the absence of self or cross dimerization using Netprimer (https://www.premierbiosoft.com/netprimer). Specificity and efficiency of primer pairs were checked by RT-qPCR and melting curves on a serial dilution of pooled cDNAs from the sample set. Primers PvAIL1-F (TGTGTGTTGCTGACTCCTTCAC) and PvAIL1-R (GTAGCAGCCCAAAAAGTCCTC) produced a single peak with 90 %-110 % efficiency and were used for further experiments. RT-qPCR were performed with the SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (Biorad, Hercules, CA) in a thermocycler with the following cycle: denaturation at 95°C for 5 min, then 40 cycles of denaturation at 95°C for 30 s followed by annealing and extending at 60°C for 30 s. Relative expression levels were calculated using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method and normalized to the threshold cycle values of the internal common bean reference genes *EF1-alpha* (Phvul.004G060000), *Actin 11* (Phvul.008G011000) and *Insulin-Degrading Enzyme* (*IDE*, Phvul.001G133200) (Foucher *et al.*, 2020; Vandesompele *et al.*, 2002). Expression values correspond to the average of six biological replicates each performed with technical duplicates.

Phylogenetic analyses

PvAIL1-homologous sequences were retrieved using a BLASTP search on whole genomes from Arabidopsis, *Medicago truncatula*, *Glycine max*, and *Phaseolus vulgaris*, available at Phytozome v12.1 (https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html#). Additional sequences from the APETALA 2 (AP2) family from *Arabidopsis* were retrieved according to Nakano *et al.*, (2006). Multiple alignment of amino acid sequences was performed with MAFFT v7.017 using the L-INS-I strategy (Katoh *et al.*, 2002). This alignment was subjected to Maximum Likelihood (ML) analysis using PHYML (Guindon *et al.*, 2010). The ML analysis was run using the JTT model of amino acid substitution, with estimated proportion of invariable sites, estimated gamma distribution and four substitution rate categories. Branch support was calculated by bootstrap analysis over 1,000 re-sampled trees. The consensus tree was constructed by keeping only clades that occurred in at least 50 % of the total original trees, and burn-in the first 80 % trees.

***k*-mer search**

To search for the presence or absence of specific mutations (i.e. substitutions or indels) within a group of strains, we used SkIF v.2.0 (Briand *et al.*, 2016), which is an approach based on the use of oligonucleotides of length *k* (= *k*-mers). Briefly, we searched for 22 nucleotide-long *k*-mers (= 22-mers) that were specifically present in the whole genomes of a group of strain and absent from the other group. This was done by grouping either strains from a single genetic lineage, or by grouping strains having high or low aggressiveness profiles (Fig. 4A).

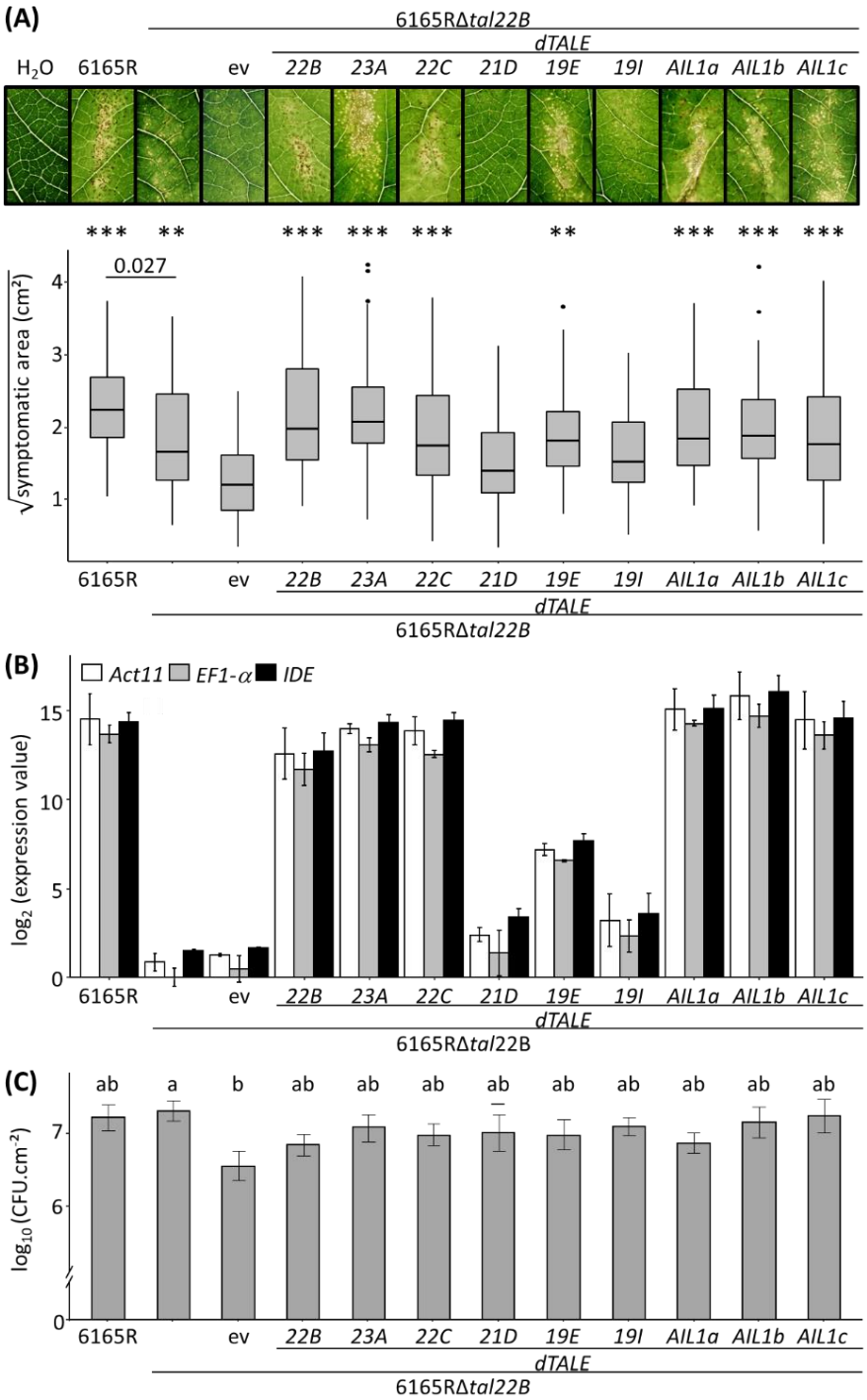


Figure 1. TALE-induction of *PvAIL1* contributes to CBB symptoms. Phenotypes of common bean leaves infected by *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* carrying different TALEs (**A**). First leaves of JaloEEP558 plants were rub-inoculated with strains 6165R, 6165RΔ*tal22B*, or 6165RΔ*tal22B* carrying an empty vector (ev) or *dTALEs*. Phenotyping was performed at 14 dpi. Results represent four combined experiments (n = 37-40). Asterisks indicate significant differences compared to ev (Student test, ** : *p*-value < 0.01, *** : *p*-value < 0.001). Pictures above correspond to leaves with median symptoms. Expression levels of *PvAIL1* (**B**). First trifoliates of JaloEEP558 plants were vacuum-infiltrated with the same strains as in (A). Expression levels of *PvAIL1* were determined by RT-qPCR at two dpi. Fold changes were calculated in comparison to leaves treated with H_2O. cDNA amounts were normalized to reference genes *Act11*, *EF1-a* and *IDE*. Error bars indicate ± SD, n = 6. Bacterial growth in primary leaves at 14 dpi (**C**). Bacteria were inoculated as described in (A) and bacterial counts were done using four 1.3 cm discs per plant. Results represent two combined experiments (n = 10) and bars with the same letters are not statistically different (Mann & Whitney test, *p*-value < 0.01). Error bars indicate ± SD.

RESULTS

Xfutal1 alleles contribute differently to CBB symptoms

To study the contribution of each *Xfutal1* allele to the pathogenicity of *Xcf*, we complemented the mutant strain 6165RΔ*tal22B* with designer *TALEs* (*dTALE*) having the same RVD sequence as every natural *Xfutal1* allele (Table S2). As observed before (Foucher *et al.* in prep), symptoms on common bean genotype JaloEEP558 were significantly lower after inoculation with the mutant compared to the wild-type (wt) strain (Fig. 1A). Complementation with *dTALE-22B* led to symptoms significantly higher than the control mutant strain carrying an empty vector (ev) and restored aggressiveness to a level similar to the wt, which validated the contribution of TAL22B to the aggressiveness of *Xcf* strain 6165R. Similarly, complementation with *dTALE-23A*, *dTALE-22C* and *dTALE-19E* significantly enhanced symptom development. On the other hand, *dTALE-21D* and *dTALE-19I* presented slightly more symptoms compared to ev, but the differences were not significant (*p*-value of 0.32 and 0.09, respectively). The presence or absence of *Xfutal1* did not affect *in planta* bacterial growth, as population sizes were quasi-identical for the wt and mutant strains at 14 dpi (Fig. 1C). The only statistical difference observed was that 6165RΔ*tal22B* induced more symptoms than ev, indicating that the plasmid used for complementation impacted both symptom development and bacterial growth (Fig. S2).

PvAIL1 is a predicted target of different *Xfutal1* alleles

Interestingly, *in silico* EBE prediction tools highlight that one gene (Phvul.010G130200) possessed a promoter with a common predicted EBE for TAL22B, TAL23A and TAL19E (Table S3) (Doyle *et al.*, 2012; Pérez-Quintero *et al.*, 2013). This gene, here called *PvAIL1* encoded a protein belonging to the AINTEGUMENTA-LIKE (AIL) subfamily of APETALA 2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR (AP2/ERF) transcription factors (Fig. 2, Nakano *et al.*, 2006). The closest protein in *Arabidopsis* was AINTEGUMENTA-LIKE 1 (AIL1), which shared 44.7 % aminoacid identity with *PvAIL1*. The predicted EBE for XfuTAL1 started 73 pb upstream of the transcription start and included the TATA box (Fig. 3).

Induction of *PvAIL1* is correlated to CBB symptom levels

Expression levels of *PvAIL1* were evaluated by RT-qPCR on JaloEEP558 leaves at two dpi (Fig. 1B). *PvAIL1* was highly up-regulated after inoculation by the wt strain, with a $\log_2$FC around 14, which represents a fold induction of 16,384 times more than in water-treated plants. Similar fold change values were observed for strains expressing dTALEs -22B, -23A and -22C, while $\log_2$FC value was around 7 (fold induction of 128) for dTALE-19E. By contrast, low induction ($\log_2$FC ≈ 2) was observed for dTALEs -19I and -21D, and *PvAIL1* was not induced in the mutant and ev strains. These results mirrored those from Fig. 1A, as increased CBB symptoms were correlated with *PvAIL1* inductions of 128 fold or more.

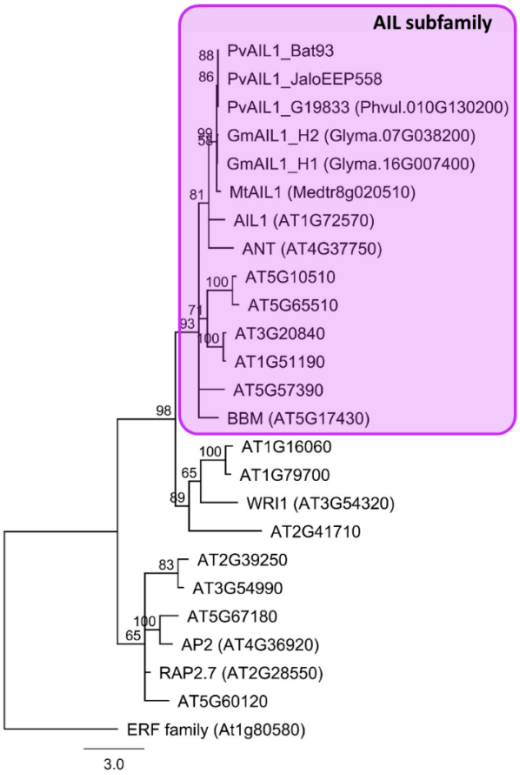


Figure 2. Phylogeny of AP2 family members. This ML tree was constructed using the whole aminoacid sequence of the 18 *Arabidopsis* AP2 family genes (Nakano *et al.*, 2006) plus *AIL1* homologs found by BLASTP analysis in *Medicago truncatula*, *Glycine max* and common bean accessions G19833, JaloEEP558 and BAT93. Rooting was done using the ERF gene *AT1G80580*. Numbers at nodes represent bootstrap values. The AIL subfamily is highlighted in purple.

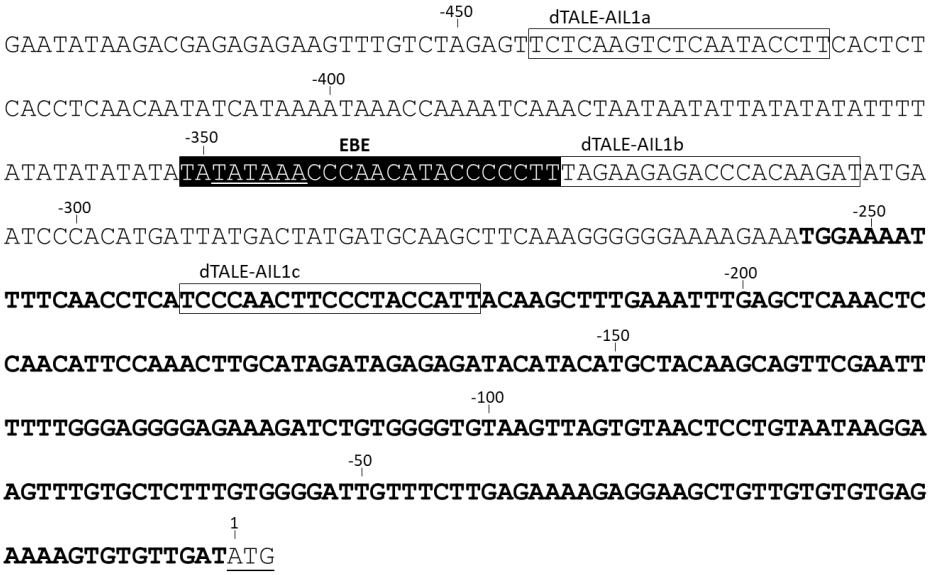


Figure 3. Sequence of *PvAIL1* promoter region. The TATA box and start codon are underlined. The 3'-UTR region is in bold. The EBE targeted by TAL23A is highlighted by white letters and black font. Target sequences of dTALE-AIL1a, dTALE-AIL1b and dTALE-AIL1c are black-framed.

TALE-induction of *PvAIL1* leads to increased CBB symptoms

To validate that increased CBB symptoms were actually due to the induction of *PvAIL1* and rule out the possibility of *PvAIL1* being an off-target of XfuTAL1, we constructed three dTALEs (dTALE-AIL1a, -AIL1b and -AIL1c) targeting different regions in the *PvAIL1* promoter, apart from the EBE (Fig. 3). Inoculation of strains complemented with these three dTALEs resulted in both *PvAIL1* induction levels and CBB symptoms similar to what was observed for the wt or strains complemented with dTALEs -22B, -23A or -22C (Fig. 1A and 1B). These results indicate that the induction of *PvAIL1* is responsible for CBB symptoms enhancement, demonstrating that *PvAIL1* is a susceptibility gene targeted by different *Xfutal1* alleles.

The aggressiveness of *Xpp-Xcf* does not correlate with TALE content or genetic lineage

We evaluated the pathogenicity of *Xpp* and *Xcf* strains carrying the different natural *Xfutal1* alleles. According to their aggressiveness, two groups could be defined (Fig. 4A). The first group comprised highly aggressive strains that produced more than 10 cm² of symptoms (*i.e.* strains 4885, 6990, 6546R and 6982), while the other strains produced less than 10 cm² of symptoms (*i.e*. strains 6165R, 6991, 6994R and 6164). *PvAIL1* was induced by strains carrying TAL22B, TAL23A, TAL22C and TAL19E to similar levels as previously observed for corresponding dTALEs (Fig. 1B and 4B), further confirming that *PvAIL1* is a target of these *Xfutal1* alleles. However, *PvAIL1* induction was not correlated with the aggressiveness level of the strains. Likewise, aggressiveness levels did not correlate with the strain's lineage, to the presence of other *tal* genes (Fig. 4C) or to bacterial population levels on plants (Fig. 4D).

In order to search for mutations potentially involved in the difference of aggressiveness observed between the strains, we searched for presence/absence of specific k-mers of size 22 (*i.e.* 22-mers) within the whole genome sequences of these strains. No gene or 22-mer corresponding to high or low aggressive was found (not shown), underlining that the aggressiveness of *Xpp-Xcf* would be mediated by a combination of multiple genes.

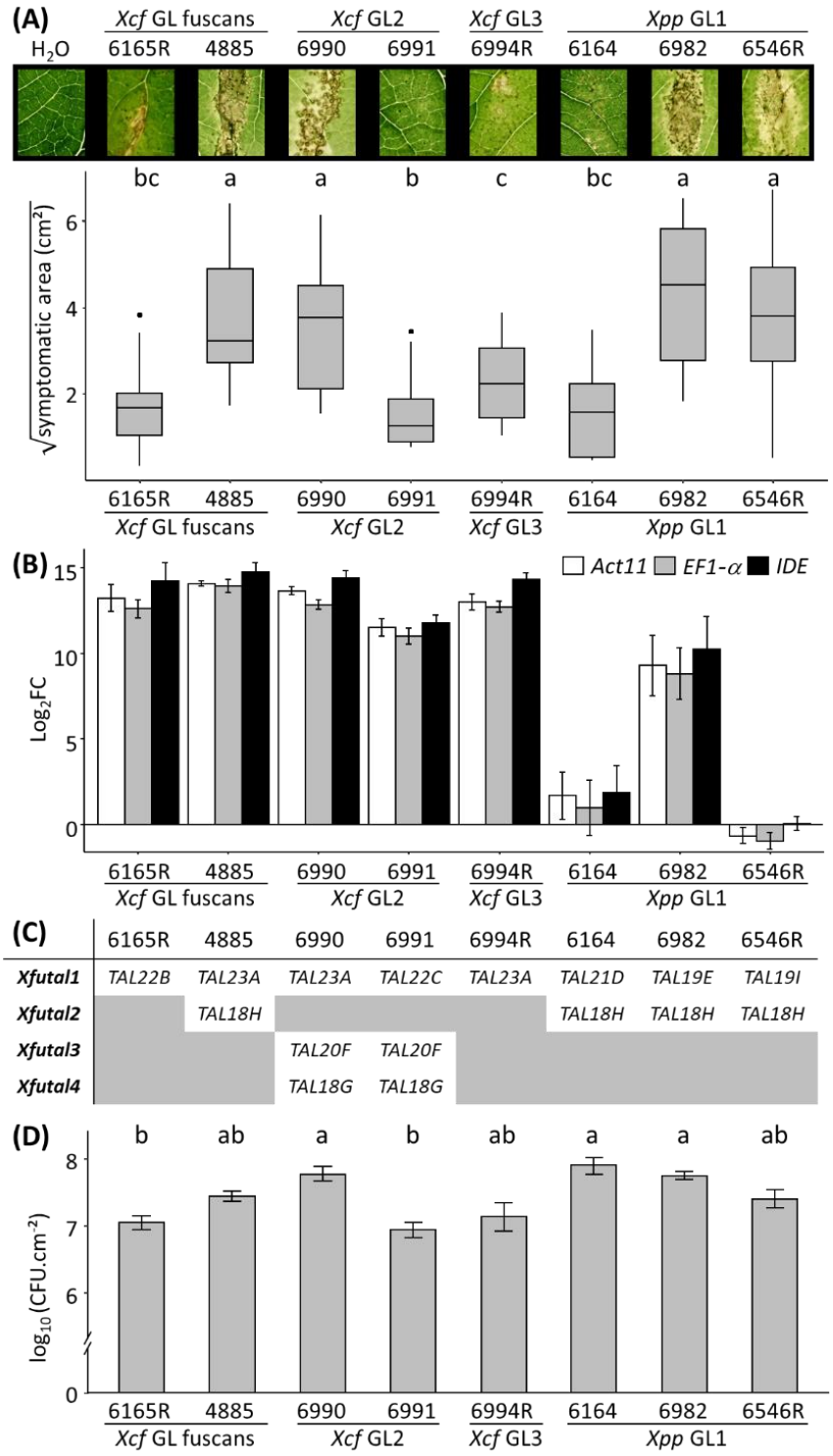


Figure 4. Aggressiveness of *Xpp* and *Xcf* strains is not correlated with TALE content or genetic lineage. Phenotypes of common bean leaves infected by *Xpp* or *Xcf* strains from different genetic lineage (**A**). First leaves of JaloEEP558 plants were rub-inoculated by eight strains from different genetic lineages (GL). Phenotyping was performed at 14 dpi. Results represent two combined experiments (n = 20) and bars with the same letters are not statistically different (Mann-Whitney test, *p*-value < 0.01). Pictures above correspond to leaves with median symptoms. Expression levels of *PvAIL1* (**B**). First trifoliates of JaloEEP558 plants were vacuum-infiltrated with the same strains as in (A). Expression levels of *PvAIL1* were determined by RT-qPCR at two dpi. Fold changes were calculated in comparison to leaves treated with H_2O. cDNA amounts were normalized to reference genes *Act11*, *EF1-a* and *IDE*. Error bars indicate ± SD, n = 6. TALE repertoire of the different *Xpp-Xcf* strains used, according to whole genome sequence data (**C**) (Ruh *et al.*, 2017). Bacterial growth in primary leaves at 14 dpi (**D**). Bacteria were inoculated as described in (A) and bacterial counts were done using four 1.3 cm discs per plant. Results represent two combined experiments (n = 10) and bars with the same letters are not statistically different (Mann-Whitney test, *p*-value < 0.001). Error bars indicate ± SD.

DISCUSSION

Here, we describe *PvAIL1* as a novel *S* gene for CBB agents. *PvAIL1* belongs to the AP2 family, which is a subfamily of the AP2/ERF transcription factors (Nakano *et al.*, 2006). To our knowledge, *PvAIL1* is the first AP2 family member described as an *S* gene so far. However, other transcription factors have been previously described as TALE targets in other *Xanthomonas*-plant interactions. This included the rice ERF *OsERF#123* targeted by TalB from *X. oryzae pv. oryzae* (Tran *et al.*, 2018) and transcription factors from other superfamilies such as the basic leucine zipper domain (bZIP) *OsTFX1* and the general transcription factor subunit *OsTFIIAγ5* (Sugio *et al.*, 2007). In addition, the basic helix-loop-helix (bHLH) transcription factors UPA20 in *Nicotiana benthamiana* (Kay *et al.*, 2007), or bHLH3 and bHLH6 in tomato (Schwartz *et al.*, 2017) and the lateral organ boundaries (LOB) transcription factor CsLOB1 in citrus (Hu *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2014b), were all described as TALE targets. These findings highlight transcription factors as a large susceptibility hub for TALEs, which may provide the advantage of inducing pleiotropic effects through the activation of a single gene.

TALE induction of transcription factors is often directly involved in symptom development, by either altering the morphology of the cells (hypertrophy, hyperplasia, cell multiplication) or modifying the cell wall (reviewed by Boch *et al.*, 2014; Schwartz *et al.*, 2017). Genes from the AIL subfamily are usually involved in developmental processes such as floral development, embryogenesis and root and shoot development (Horstman *et al.*, 2014). In *Populus*, AIL1 act as a cell cycle regulator by interacting with the promoter of several D-type cyclines (Karlberg *et al.*, 2011). Interestingly, a D-type cycline was already found as a TALE target in rice, and is probably involved in counteract defense (Cai *et al.*, 2017). Future experiments exploring the secondary targets of *PvAIL1* may reveal by which mechanism its induction by TALEs contributes to CBB symptoms.

Xfutal1 was previously described as an important factor for pathogenicity of CBB agents, as it is present in all *Xpp*-*Xcf* strains studied so far, and was shared among distant *Xpp* and *Xcf* lineages through horizontal gene transfer (Ruh *et al.*, 2017). Our study showed that the alleles found in *Xcf* lineages (*i.e.* TAL22B, TAL23A, and TAL22C) were all able to induce *PvAIL1* and contribute to symptom enhancement. It was rather unexpected that *PvAIL1* was induced by TAL22C despite not being predicted as a target for this TALE. This may be due to the fact that prediction software favor EBEs preceded by a thymine or a cytosine (Doyle *et al.*, 2012; Pérez-Quintero *et al.*, 2013). Indeed, the sequence of TAL22C lacks the first repeat found in TAL22B and TAL23A, which would here result in an EBE being preceded by an adenine (Table S2; Fig. 3). Interestingly, having an adenine at position -1 did not alter the ability of TAL22C to induce *PvAIL1* compared to TAL23A or TAL22B (Fig. 1B and 4B).

On the other hand, alleles from *Xpp* strains (*i.e.* TAL21D, TAL19E and TAL19I) led to lower *PvAIL1* induction compared to *Xcf* alleles. As such, TAL21D and TAL19I failed to induce *PvAIL1* to levels high enough to contribute to aggressiveness. As previously described (Ruh *et al.*, 2017), the RVD sequences of *Xcf* alleles are almost identical to each other, while alleles from *Xpp* strains are more diverse (Table S2). TAL19E was rather close to *Xcf* alleles, as

polymorphisms occurred only after the 15th RVD, while TAL19I and TAL21D diverged from *Xcf* alleles after the 13th RVD compared to TAL23A. This proximity to *Xcf* alleles may explain why TAL19E was able to induce *PvAIL1*, although at a lower level than *Xcf* alleles. In addition, these results suggest that specific evolution leading to non-functional alleles of *Xfutal1* occurred in the *Xpp* GL1 lineage. It is thus tempting to speculate that additional virulence factors exist within the genomes of *Xpp* strains, which compensate this loss of function. This can be exemplified by strain 6546R, which is highly virulent despite not being able to induce *PvAIL1* (Fig. 4). However, we could not find any mutation specifically related to the high aggressiveness or to the genetic lineage of the strains.

The identification of novel TALE targets is a stepping-stone towards TALE-based resistance engineering. Given that the TALE repertoire of CBB agents is limited to only four genes and that *Xfutal1* is present in all *Xpp*-*Xcf* strains studied so far, developing resistance to CBB based on TALEs may appear quite straightforward at first. However, our study demonstrates that the allelic diversity of *Xfutal1* combined to the genetic complexity of *Xpp*-*Xcf* led to strains having different strategies for pathogenicity. Therefore, further analyses are required to decipher the function of the whole TALE repertoire of CBB agents, as well as other pathogenicity-associated genes, all potentially operating in a concerted manner.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Boris Szurek for his valuable advice, Brice Marolleau and Matthieu Gaucher for their advices during RT-qPCR assays, David Belhaddad for their help in Western Blot, and Daniel Sochard for his help in plant culture. The authors also thank the French Network on Xanthomonads (FNX) (https://www.reseau-xantho.org/) for recurrent scientific exchange within the framework of the ANR CROpTAL project. Bacterial strain preservation and supply is ensured by the CIRM-CFBP (Beaucouzé, INRA, France; https://www6.inrae.fr/cirm_eng/CFBP-Plant-Associated-Bacteria). This article is based upon work from COST Action CA16107 EuroXanth, supported by COST (European Cooperation in Science and Technology).

AUTHORS CONTRIBUTION

JF, MAJ and NWGC designed the study. JF, SB, CG and NWGC performed pathogenicity tests. MR constructed dTALE similar to *Xfutal1* alleles and SB performed the complementation. JF, CG and NWGC constructed the dTALE-AIL1 and performed the complementation. Validation of complementations were performed by JF, MR, SB and CG. JF and CG performed and analyzed RT-qPCR. ML tree was constructed by NWGC. JF, MAJ and NWGC wrote the manuscript. All authors read and approved the final version of the manuscript.

FUNDING

This study was supported by the French National Research Agency CROpTAL project to NWGC (ANR-14-CE19–0002-04). MR was funded by a PhD grant (X-HOT project) from

Angers-Loire Metropole, France. JF is funded by a PhD grant (BRUTAL project) from the French National Research Institute for Agriculture Plant Health and Environment division (INRAE-SPE) and the region Pays de la Loire, France. The funding bodies did not participate in any of the study design, data collection and analysis, or in writing of the manuscript.

ABBREVIATION

AIL : AINTEGUMENTA-LIKE; AIL1 : AINTEGUMENTA-LIKE 1; AP2/ERF : APETALA 2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR; cfu : colony-forming units; dTALE : designer TALE; EBE : effector-binding element; GL : genetic lineage; RVD : repeat variable di-residue; *S* : susceptibility gene; TALE : transcription activator-like effectors; TSA : Trypticase Soy Agar; wt : wild type; *Xcf* : *Xanthomonas citri* pv. *fuscans*; *Xcf* : *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli.*

REFERENCES

Abe, V. Y., and Benedetti, C. E. (2016). Additive roles of PthAs in bacterial growth and pathogenicity associated with nucleotide polymorphisms in effector-binding elements of citrus canker susceptibility genes. Mol. Plant Pathol. 17, 1223–1236. doi:10.1111/mpp.12359.

Alavi, S. M., Sanjari, S., Durand, F., Brin, C., Manceau, C., and Poussier, S. (2008). Assessment of the genetic diversity of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and Xanthomonas fuscans subsp. fuscans as a basis to identify putative pathogenicity genes and a type III secretion system of the SPI-1 family by multiple suppression subtractive h. Appl. Environ. Microbiol. 74, 3295–3301. doi:10.1128/AEM.02507-07.

Aritua, V., Harrison, J., Sapp, M., Buruchara, R., Smith, J., and Studholme, D. J. (2015). Genome sequencing reveals a new lineage associated with lablab bean and genetic exchange between Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and Xanthomonas fuscans subsp. fuscans. Front. Microbiol. 6, 1–18. doi:10.3389/fmicb.2015.01080.

Berg, S., Kutra, D., Kroeger, T., Straehle, C. N., Kausler, B. X., Haubold, C., *et al.* (2019). Ilastik: Interactive Machine Learning for (Bio)Image Analysis. Nat. Methods 16, 1226–1232. doi:10.1038/s41592-019-0582-9.

Blanvillain-Baufumé, S., Reschke, M., Solé, M., Auguy, F., Doucoure, H., Szurek, B., *et al.* (2017). Targeted promoter editing for rice resistance to Xanthomonas oryzae pv. oryzae reveals differential activities for SWEET14-inducing TAL effectors. Plant Biotechnol. J. 15, 306–317. doi:10.1111/pbi.12613.

Boch, J., and Bonas, U. (2010). Xanthomonas AvrBs3 family-type III effectors: discovery and function. Annu. Rev. Phytopathol. 48, 419–436. doi:10.1146/annurev-phyto-080508-081936.

Boch, J., Bonas, U., and Lahaye, T. (2014). TAL effectors--pathogen strategies and plant resistance engineering. New Phytol. 204, 823–832. doi:10.1111/nph.13015.

Boch, J., Scholze, H., Schornack, S., Landgraf, A., Hahn, S., Kay, S., *et al.* (2009). Breaking the Code of DNA Binding Specificity of TAL-Type III Effectors. Science. 326, 1509–1512. doi:10.1126/science.1178811.

Bogdanove, A. J., Schornack, S., and Lahaye, T. (2010). TAL effectors: Finding plant genes for disease and defense. Curr. Opin. Plant Biol. 13, 394–401.

Briand, M., Gaborieau, R., Jacques, M., Barret, M., Boureau, T., Gaillard, S., *et al.* (2016). SkIf : a tool for rapid identification of genes or regulators of interest [version 1; not peer reviewed]. F1000Research 5, (poster). doi:10.7490/f1000research.1112490.1.

Cai, L., Cao, Y., Xu, Z., Ma, W., Zakria, M., Zou, L., *et al.* (2017). A Transcription Activator-Like Effector Tal7 of Xanthomonas oryzae pv. Oryzicola Activates Rice Gene Os09g29100 to Suppress Rice Immunity. Sci. Rep. 7, 1–13. doi:10.1038/s41598-017-04800-8.

Cernadas, R. A., Doyle, E. L., Nino-Liu, D. O., Wilkins, K. E., Bancroft, T., Wang, L., *et al.* (2014). Code-Assisted Discovery of TAL Effector Targets in Bacterial Leaf Streak of Rice Reveals Contrast with Bacterial Blight and a Novel Susceptibility Gene. Plos Pathog. 10. doi:10.1371/journal.ppat.1003972.

Chen, N. W. G., Ruh, M., Darrasse, A., Foucher, J., Briand, M., Costa, J., *et al.* Common bacterial blight of bean : a model of seed transmission and pathological convergence. In prep.

Chen, N. W. G., Serres-Giardi, L., Ruh, M., Briand, M., Bonneau, S., Darrasse, A., *et al.* (2018). Horizontal gene transfer plays a major role in the pathological convergence of Xanthomonas lineages on common bean. BMC Genomics 19, 1–20. doi:10.1186/s12864-018-4975-4.

Cohn, M., Bart, R. S., Shybut, M., Dahlbeck, D., Gomez, M., Morbitzer, R., *et al.* (2014). Xanthomonas axonopodis virulence is promoted by a transcription activator-like effector-mediated induction of a SWEET sugar transporter in cassava. Mol. Plant Microbe Interact. 27, 1186–1198. doi:10.1094/MPMI-06-14-0161-R.

Constantin, E. C., Cleenwerck, I., Maes, M., Baeyen, S., Van Malderghem, C., De Vos, P., *et al.* (2016). Genetic characterization of strains named as Xanthomonas axonopodis pv. dieffenbachiae leads to a taxonomic revision of the X. axonopodis species complex. Plant Pathol. 65, 792–806. doi:10.1111/ppa.12461.

Cox, K. L., Meng, F., Wilkins, K. E., Li, F., Wang, P., Booher, N. J., *et al.* (2017). TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. Nat. Commun. 24, 15588. doi:10.1038/ncomms15588.

Doyle, E. L., Booher, N. J., Standage, D. S., Voytas, D. F., Brendel, V. P., Vandyk, J. K., *et al.* (2012). TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT) 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. Nucleic Acids Res. 40, 117–122. doi:10.1093/nar/gks608.

Foucher, J., Ruh, M., Preveaux, A., Briand, M., Barbazange, F., Bonneau, S., *et al.* Improving common bacterial blight phenotyping by using machine learning : cheaper, better, faster, stronger . In prep.

Foucher, J., Ruh, M., Préveaux, A., Carrère, S., Pelletier, S., Briand, M., *et al.* (2020). Common bean resistance to Xanthomonas is associated with upregulation of the salicylic acid pathway and downregulation of photosynthesis. BMC Genomics 21, 1–18. doi:10.1186/s12864-020-06972-6.

Geißler, R., Scholze, H., Hahn, S., Streubel, J., Bonas, U., Behrens, S. E., *et al.* (2011). Transcriptional activators of human genes with programmable DNA-specificity. PLoS One 6, 1–7. doi:10.1371/journal.pone.0019509.

Grau, J., Wolf, A., Reschke, M., Bonas, U., Posch, S., and Boch, J. (2013). Computational Predictions Provide Insights into the Biology of TAL Effector Target Sites. PLoS Comput. Biol. 9. doi:10.1371/journal.pcbi.1002962.

Gu, K., Yang, B., Tian, D., Wu, L., Wang, D., Sreekala, C., *et al.* (2005). R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. Nature 435, 1122–1125.

Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., and Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. Syst. Biol. 59, 307–321. doi:10.1093/sysbio/syq010.

Horstman, A., Willemsen, V., Boutilier, K., and Heidstra, R. (2014). AINTEGUMENTA-LIKE proteins: Hubs in a plethora of networks. Trends Plant Sci. 19, 146–157. doi:10.1016/j.tplants.2013.10.010.

Hu, Y., Zhang, J., Jia, H., Sosso, D., Li, T., Frommer, W. B., *et al.* (2014). Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. Proc. Natl. Acad. Sci. 111, E521–E529. doi:10.1073/pnas.1313271111.

Hummel, A. W., Doyle, E. L., and Bogdanove, A. J. (2012). Addition of transcription activator-like effector binding sites to a pathogen strain-specific rice bacterial blight resistance gene makes it effective against additional strains and against bacterial leaf streak. New Phytol. 195, 883–893.

Hutin, M., Césari, S., Chalvon, V., Michel, C., Tran, T. T., Boch, J., *et al.* (2016). Ectopic activation of the rice NLR heteropair RGA4/RGA5 confers resistance to bacterial blight and bacterial leaf streak diseases. Plant J. 88, 43–55. doi:10.1111/tpj.13231.

Karlberg, A., Bako, L., and Bhalerao, R. P. (2011). Short day-mediated cessation of growth requires the downregulation of AINTEGUMENTALIKE1 transcription factor in hybrid aspen. PLoS Genet. 7. doi:10.1371/journal.pgen.1002361.

Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. I., and Miyata, T. (2002). MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. Nucleic Acids Res. 30, 3059–3066. doi:10.1093/nar/gkf436.

Kay, S., Boch, J., and Bonas, U. (2005). Characterization of AvrBs3-Like Effectors from a Brassicaceae Pathogen Reveals Virulence and Avirulence Activities and a Protein with a Novel Repeat Architecture . Mol. Plant-Microbe Interact. 18, 838–848. doi:10.1094/mpmi-18-0838.

Kay, S., Hahn, S., Marois, E., Hause, G., and Bonas, U. (2007). A Bacterial Effector Acts as a Plant Transcription Factor and Induces a Cell Size Regulator. Science. 318, 648–651. doi:10.1126/science.1144956.

Kremer, F. S., Guimarées, A. M., Sanchez, C. D., and Da Silva Pinto, L. (2019). TargeTALE: A web resource to identify TALEs in xanthomonas genomes and their respective targets. Mol. Plant-Microbe Interact. 32, 1577–1580. doi:10.1094/MPMI-08-19-0227-A.

Li, T., Liu, B., Spalding, M. H., Weeks, D. P., and Yang, B. (2012). High-efficiency TALEN-based gene editing produces disease-resistant rice. Nat. Biotechnol. 30, 390–392. doi:10.1038/nbt.2199.

Li, Z., Zou, L., Ye, G., Xiong, L., Ji, Z., Zakria, M., *et al.* (2014). A potential disease susceptibility gene CsLOB of citrus is targeted by a major virulence effector PthA of xanthomonas citri subsp. citri. Mol. Plant 7, 912–915. doi:10.1093/mp/sst176.

Mak, A. N., Bradley, P., Cernadas, R. a, Bogdanove, A. J., and Stoddard, B. L. (2012). The crystal structure of TAL effector PthXo1 bound to its DNA target. Science . 335, 716–719.

Moscou, M., and Bogdanove, A. (2009). A Simple Cipher Governs DNA Recognition by TAL Effectors. Science 326, 1501.

Nakano, T., Suzuki, K., Fujimura, T., and Shinshi, H. (2006). Genome-Wide Analysis of the ERF Gene Family. Plant Physiol. 140, 411–432.

Nodari, R. O., Tsai, S. M., Guzmán, P., Gilbertson, R. L., and Gepts, P. (1993). Toward an Integrated Linkage Map of Common Bean. III. Mapping Genetic Factors Controlling Host-Bacteria Interactions. Genetics 134, 341–50.

Peng, Z., Hu, Y., Zhang, J., Huguet-Tapia, J. C., Block, A. K., Park, S., *et al.* (2019). Xanthomonas translucens commandeers the host rate-limiting step in ABA biosynthesis for disease susceptibility. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 116, 20938–20946. doi:10.1073/pnas.1911660116.

Pérez-Quintero, A. L., Rodriguez-R, L. M., Dereeper, A., López, C., Koebnik, R., Szurek, B., *et al.* (2013). An Improved Method for TAL Effectors DNA-Binding Sites Prediction Reveals Functional Convergence in TAL Repertoires of Xanthomonas oryzae Strains. PLoS One 8, e68464. doi:10.1371/journal.pone.0068464.

Perez-Quintero, A. L., and Szurek, B. (2019). A Decade Decoded: Spies and Hackers in the History of TAL Effectors Research. Annu. Rev. Phytopathol. 57, 1–23. doi:10.1146/annurev-phyto-082718-100026.

Römer, P., Hahn, S., Jordan, T., Strauss, T., Bonas, U., and Lahaye, T. (2007). Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. Science 318, 645–648.

Ruh, M., Briand, M., Bonneau, S., Jacques, M., and Chen, N. W. G. (2017). Xanthomonas adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. BMC Genomics 18, 1–18. doi:10.1186/s12864-017-4087-6.

Schornack, S., Moscou, M. J., Ward, E. R., and Horvath, D. M. (2013). Engineering Plant Disease Resistance Based on TAL Effectors. Annu. Rev. Phytopathol. 51, 383–406.

Schwartz, A. R., Morbitzer, R., Lahaye, T., and Staskawicz, B. J. (2017). TALE-induced bHLH transcription factors that activate a pectate lyase contribute to water soaking in bacterial spot of tomato. Proc. Natl. Acad. Sci. 114, E897–E903. doi:10.1073/pnas.1620407114.

Streubel, J., Pesce, C., Hutin, M., Koebnik, R., Boch, J., and Szurek, B. (2013). Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to Xanthomonas oryzae pv. oryzae. New Phytol. 200, 808–819. doi:10.1111/nph.12411.

Sugio, A., Yang, B., Zhu, T., and White, F. F. (2007). Two type III effector genes of Xanthomonas oryzae pv. oryzae control the induction of the host genes OsTFIIAγ1 and OsTFX1 during bacterial blight of rice. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 104, 10720–10725. doi:10.1073/pnas.0701742104.

Szurek, B., Marois, E., Bonas, U., and Van Ackerveken, G. Den (2001). Eukaryotic features of the Xanthomonas type III effector AvrBs3: Protein domains involved in transcriptional activation and the interaction with nuclear import receptors from pepper. Plant J. 26, 523–534. doi:10.1046/j.0960-7412.2001.01046.x.

Tran, T. T., Pérez-Quintero, A. L., Wonni, I., Carpenter, S. C. D., Yu, Y., Wang, L., *et al.* (2018). Functional analysis of African Xanthomonas oryzae pv . oryzae TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf light of rice. PLoS Pathog. 14, e1007092. doi:10.1371/journal. ppat.1007092.

Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., Ye, J., Faircloth, B. C., Remm, M., *et al.* (2012). Primer3-new capabilities and interfaces. Nucleic Acids Res. 40, e115. doi:10.1093/nar/gks596.

Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., *et al.* (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. Genome Biol. 3, research0034.1–0034.11. doi:10.1186/gb-2002-3-7-research0034.

Xue, J., Lu, Z., Liu, W., Wang, S., Lu, D., Wang, X., *et al.* (2020). The genetic arms race between plant and Xanthomonas : lessons learned from TALE biology. Sci China Life Sci 63.

Yang, B., Sugio, A., and White, F. F. (2006). Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. Proc. Natl. Acad. Sci. 103, 10503–8. doi:10.1073/pnas.0604088103.

Yang, J., Zhang, Y., Yuan, P., Zhou, Y., Cai, C., Ren, Q., *et al.* (2014). Complete decoding of TAL effectors for DNA recognition. Cell Res. 24, 628–631. doi:10.1038/cr.2014.19.

Zeng, X., Tian, D., Gu, K., Zhou, Z., Yang, X., Luo, Y., *et al.* (2015). Genetic engineering of the Xa10 promoter for broad-spectrum and durable resistance to Xanthomonas oryzae pv . oryzae. Plant Biotechnol. J., 993–1001.

Zhang, J., Yin, Z., and White, F. (2015). TAL effectors and the executor R genes. Front. Plant Sci. 6, 1–9.

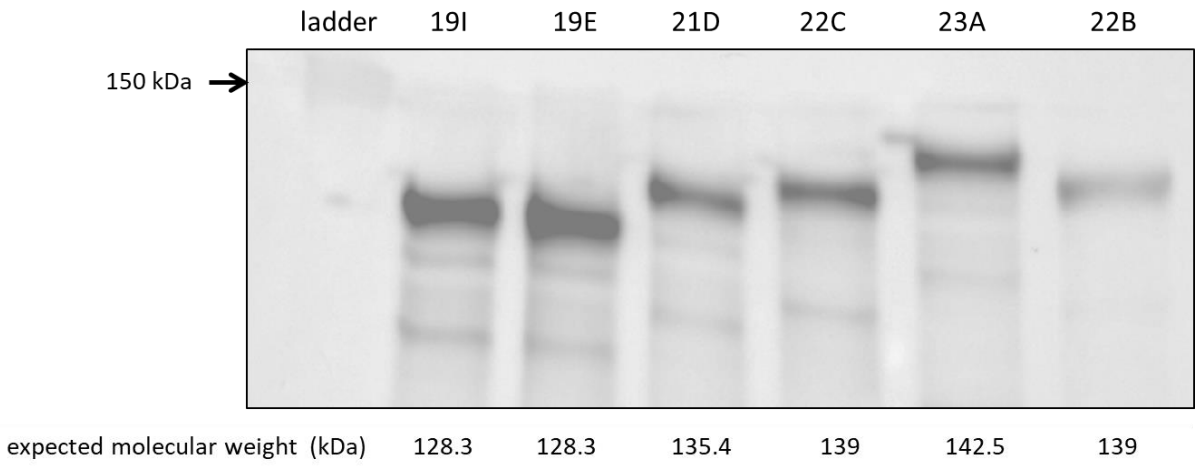


Figure S1. Western blot of dTALEs. Total proteins were extracted from bacterial suspension of 6165RΔ*tal22B* strains complemented with dTALEs -19I, -19E, -21D, -22C, -23A or -22B, and migrated by Sodium Dodecyl Sulfate – Polyacrylamid Gel Electrophoresis (SDS-PAGE), then immunoblotted with a primary anti-TALE antibody.

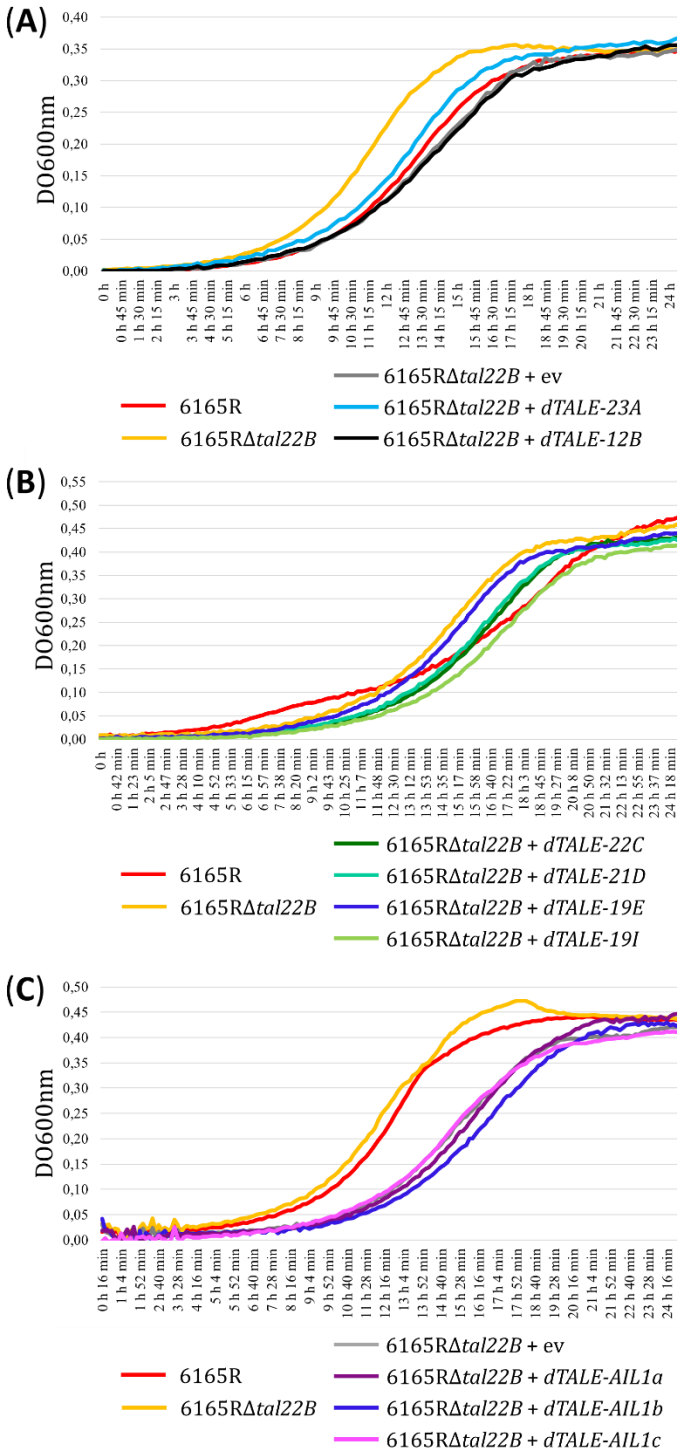


Figure S2. Bacterial growth dynamics of 6165RΔ*tal22B* complemented by dTALEs. Impact of dTALE-23A and -22B (**A**), dTALE-22C, -21D, -19E and -19I (**B**) and of dTALE-AIL1a, b and c (**C**) on bacterial growth dynamics compared to 6165R, 6165RΔ*tal22B* and 6165RΔ*tal22B* + ev.

Table S1. List of strains used in this study.

Genetic lineage	Strain name	Caracteristics	*tal* content
Xcf (GL fuscans)	4885	CFBP4885, rifamycin resistant	*Xfutal1* (*tal23A*)
	6165R	WT strain derivative of CFBP6165, rifamycin resistant	*Xfutal1* (*tal22B*)
	6165RΔ*tal22B*	*tal22B* deletion mutant of 6165R, rifamycin resistant	-
	6165RΔ*tal22B* + *ev*	6165RΔ*tal22B* complemented with the empty vector pSKX1, rifamycin and gentamicin resistant	-
	6165RΔ*tal22B* + *dTALE-22B*	6165RΔ*tal22B* complemented with *dTALE-22B*, rifamycin and gentamicin resistant	*dTALE-22B*
	6165RΔ*tal22B* + *dTALE-23A*	6165RΔ*tal22B* complemented with *dTALE-23A*, rifamycin and gentamicin resistant	*dTALE-23A*
	6165RΔ*tal22B* + *dTALE-22C*	6165RΔ*tal22B* complemented with *dTALE-22C*, rifamycin and gentamicin resistant	*dTALE-22C*
	6165RΔ*tal22B* + *dTALE-21D*	6165RΔ*tal22B* complemented with *dTALE-21D*, rifamycin and gentamicin resistant	*dTALE-21D*
	6165RΔ*tal22B* + *dTALE-19E*	6165RΔ*tal22B* complemented with *dTALE-19E*, rifamycin and gentamicin resistant	*dTALE-19E*
	6165RΔ*tal22B* + *dTALE-19I*	6165RΔ*tal22B* complemented with *dTALE-19I*, rifamycin and gentamicin resistant	*dTALE-19I*
	6165RΔ*tal22B* + *dTALE-AIL1a*	6165RΔ*tal22B* complemented with *dTALE-AIL1a*, rifamycin and gentamicin resistant	*dTALE-AIL1a*
	6165RΔ*tal22B* + *dTALE-AIL1b*	6165RΔ*tal22B* complemented with *dTALE-AIL1b*, rifamycin and gentamicin resistant	*dTALE-AIL1b*
	6165RΔ*tal22B* + *dTALE-AIL1c*	6165RΔ*tal22B* complemented with *dTALE-AIL1c*, rifamycin and gentamicin resistant	*dTALE-AIL1c*
Xcf (GL3)	6994R	derivative of CFBP6994, rifamycin resistant	*Xfutal1* (*tal23A*)
Xcf (GL2)	6990	CFBP6990	*Xfutal1* (*tal23A*) + *Xfutal3* + *Xfutal4*
	6991	CFBP6991	*Xfutal1* (*tal23A*) + *Xfutal3* + *Xfutal4*
Xpp (GL1)	6982	CFBP6982	*Xfutal1* (*tal19E*) + *Xfutal2*
	6164	CFBP6164	*Xfutal1* (*tal21D*) + *Xfutal2*
	6546R	derivative of CFBP6546, rifamycin resistant	*Xfutal1* (*tal19I*) + *Xfutal2*

Xcf: *Xanthomonas citri* pv. *fuscans*, *Xpp*: *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*.

Table S2. RVD sequences of dTALEs.

dTALE	RVD sequence	Originating from
dTALE-23A	NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD NI HD NI HD HD HD HD HD NG NG	*Xcf*
dTALE-22B	NI NG NI NG NI NN NG NN HD NN NN NN HD NI HD NI HD HD HD HD HD NG	*Xcf*
dTALE-22C	NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD NI HD NI HD HD HD HD HD NG NG	*Xcf*
dTALE-21D	NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD HD NI HD HD HD HD NG HD	*Xpp*
dTALE-19E	NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD NI HD HD HD HD NG	*Xpp*
dTALE-19I	NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD HD NI HD HD NG HD	*Xpp*
dTALE-AIL1a	HD NG HD NI NI NN NG HD NG HD NI NI NG NI HD HD NG NG	-
dTALE-AIL1b	NI NN NI NI NN NI NN NI HD HD HD NI HD NI NI NN NI NG	-
dTALE-AIL1c	HD HD HD NI NI HD NG NG HD HD HD NG NI HD HD NI NG NG	-

Table S3. Prediction ranks of the EBE sequence identified in the promoter of *PvAIL1*.

TALE	Target Finder	TALVEZ
TAL23A	1	1
TAL22B	1	1
TAL22C	-	-
TAL21D	-	-
TAL19E	24	-
TAL19I	-	-

3. Discussion et perspectives

L'étude des différents allèles de *Xfutal1* a permis de valider l'implication de cet effecteur dans l'agressivité de *Xcf*, et de découvrir sa cible : le gène *PvAIL1*. Pour compléter l'article présenté, il serait intéressant d'évaluer l'accroche des différentes protéines XfuTAL1 sur l'EBE de *PvAIL1*, à l'aide d'essais sur tabac avec le gène rapporteur GUS comme présenté dans le chapitre 4. Ces expérimentations permettraient de conforter le fait que certains allèles de *Xfutal1* peuvent induire *PvAIL1* tandis que d'autres n'en sont pas capables. Egalement, il pourrait être intéressant de comparer l'agressivité de souches complémentées avec la version sauvage et clonée de *tal22B* ou *tal23A* (disponibles au laboratoire) à l'agressivité des souches complémentées avec *dTAL22B* ou *dTAL23A*. Si l'agressivité est similaire entre les *tal* natifs clonés et les *dTALE* construits, alors nous pourrons poursuivre l'utilisation des dTALE dans le pathosystème haricot-*Xanthomonas.*

De façon intéressante, les allèles *Xfutal1* présents dans les souches *Xcf* engendrent une forte augmentation de l'agressivité, tandis que les allèles de *Xfutal1* dans les souches *Xpp* n'engendrent qu'une faible augmentation de l'agressivité. Face à ces résultats, il serait intéressant de tester le rôle des allèles *Xfutal1* dans une souche *Xpp*, afin d'évaluer l'impact du fond génétique sur la capacité de ces allèles à être fonctionnels.

Le gène *PvAIL1* code un facteur de transcription pouvant être impliqué dans le développement floral, l'embryogénèse ou encore le développement des racines ou des tiges. Sachant que *Xpp* et *Xcf* sont capables de se transmettre par les semences, il serait intéressant d'évaluer l'implication de *PvAIL1* dans la transmission de *Xpp*-*Xcf* par les semences. Enfin, pour mieux comprendre l'implication de *PvAIL1* dans le développement des symptômes, il serait intéressant de trouver les gènes régulés par ce facteur de transcription. Pour cela, il serait possible de mener une analyse transcriptomique comparative des gènes différentiellement exprimés lorsque *PvAIL1* est induit ou non chez JaloEEP558.

Chapitre 4 :
Etude de la structure de TAL18H, de son rôle dans la pathogénie de *Xpp* et de ses cibles potentielles

1. Préambule

Durant la thèse précédente (Ruh, 2017) des travaux ont été amorcés pour étudier la structure atypique de TAL18H et les cibles potentielles de cet effecteur. Durant ma thèse, j'ai pu continuer l'étude de cet effecteur afin de valider son rôle dans l'agressivité de *Xpp* et tester l'implication de deux cibles potentielles de cet effecteur dans le gain d'agressivité lié à TAL18H.

La première partie de ce chapitre correspond à un article qui décrit l'analyse du rôle de répétitions et RVD atypiques trouvés dans la séquence de TAL18H. L'ensemble des expériences visant à comprendre la spécificité d'accroche de ces répétitions atypiques ont été menées par Mylène Ruh lors de sa thèse, durant un séjour en Allemagne dans l'équipe de Jens Boch avec l'aide de Sebastian Becker (Leibniz University, Hanovre). Pour ma part, j'ai mené des tests sur haricot avec un mutant complémenté par différentes versions de TAL18H portant des répétitions atypiques ou non, afin d'analyser leur impact sur la pathogénie. Sophie Bonneau et Nicolas Chen m'ont aidé pendant ces expérimentations. Marie-Agnès Jacques, Nicolas Chen, Mylène Ruh et moi-même ont participé à la conception de cette étude et à la rédaction du manuscrit.

Dans une deuxième partie de ce chapitre, des résultats complémentaires présentent l'impact de TAL18H sur le transcriptome de BAT93 et JaloEEP558 et l'étude de deux cibles potentielles de TAL18H. Les données brutes du RNA-Seq ont été traitées par Sébastien Carrère avant d'être analysées par moi-même avec l'aide de Sandra Pelletier et Martial Briand. Les prédictions de cibles ont été générées par Nicolas Chen, et ont été comparées aux données RNA-Seq afin d'obtenir la liste des cibles potentielles de TAL18H. Au début de ma thèse Sophie Bonneau et moi-même avons suivi une formation encadrée par Mylène Ruh afin de construire les dTALEs permettant de valider certaines de ces cibles. Les expérimentations sur plantes incluant les tests de pouvoir pathogène et les RT-qPCR sur les gènes candidats ont été menées par moi-même, avec l'aide de Sophie Bonneau, Nicolas Chen et Charlotte Gaudin.

2. TAL18H: a rendez-vous between an atypical TALE repeat and an atypical RVD.

Mylène Ruh[1], Justine Foucher[1], Sebastian Becker[2], Sophie Bonneau[1], Marie-Agnès Jacques[1], Jens Boch[2] and Nicolas W.G. Chen[1]*.

[1]IRHS, INRAE, AGROCAMPUS OUEST, Université d'Angers, SFR4207 QUASAV, 42, rue Georges Morel, F-49071 Beaucouzé, France.

[2]Institut für Pflanzengenetik, Leibniz Universität Hannover, Hannover, Germany.

* Corresponding author

E-mail addresses of all authors:

Mylène Ruh: mylene.ruh@inrae.fr

Justine Foucher: justine.foucher@inrae.fr

Sebastian Becker: sebastian.beckergenetik.uni-hannover.de

Jens Boch: jens.boch@genetik.uni-hannover.de

Marie-Agnès Jacques: marie-agnes.jacques@inrae.fr

Nicolas W.G. Chen: nicolas.chen@agrocampus-ouest.fr

ABSTRACT

Xanthomonas is a genus of plant pathogenic bacteria that use transcription activator-like effectors (TALEs) to activate specific host genes to promote infection. The specificity of TALEs resides in tandem repeats of 33 to 35 amino acids, of which residues 12 and 13, also called repeat variable diresidue (RVD), are involved in the specific binding of TALEs to DNA. TAL18H is a TALE shared among strains of *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (*Xpp*) and *X. citri* pv. *fuscans*, the causal agents of common bacterial blight of bean. TAL18H presents atypical repeats starting with an MTLA motif, and carrying the unusual RVD HY. To understand the role of this atypical structure, we characterized the binding specificity of HY and the impact of the MTLA motif on the efficiency of this binding. In addition, we evaluated the impact of TAL18H and its atypical repeats on pathogenicity. We found that HY binds preferentially to adenine and that the MTLA motif increases the efficiency of this binding in addition to conferring secondary binding specificity to cytosine. Moreover, TAL18H is involved in the pathogenicity of *Xpp*, and the atypical MTLA repeats participate in increasing *in planta* bacterial proliferation. Together, our results show that the structure of TALE repeats can modify RVD binding efficiency to DNA, which can lead to new beneficial functions during plant infection.

Keywords: common bacterial blight, common bean, *Xanthomonas*, Transcription Activator-Like effector, TALE structure, pathogenicity.

INTRODUCTION

The genus *Xanthomonas* group a diversity of plant pathogens able to infect many economically important crops such as rice, soybean, cassava, citrus and bean, and are responsible for significant yield losses worldwide (Hayward, 1993; Jacques *et al.*, 2016). The virulence of these bacteria is partly based on their ability to deliver Type III Effectors (T3E) to the plant cell through a Type III Secretion System (T3SS) (Büttner and Bonas, 2010; Timilsina *et al.*, 2020). *Xanthomonas* Transcription Activator-Like Effectors (TALE) represent a unique class of T3E able to mimic eukaryotic transcription factors (Boch and Bonas, 2010; Bonas *et al.*, 1989; Heuer *et al.*, 2007). TALE homologs were found in few other genera and named RipTALs in *Ralstonia solanacearum* (De Lange *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2013), Bats in *Burkholderia rhizoxinica* (De Lange *et al.*, 2014; Juillerat *et al.*, 2014; Stella *et al.*, 2014) or MorTLs in unknown marine organisms (De Lange *et al.*, 2015).

TALEs have the ability to enter the plant nucleus where they directly bind to specific DNA sequences called Effector Binding Elements (EBE) and induce the transcription downstream of their binding site. EBEs are usually located in the promoter region of targeted genes (Boch and Bonas, 2010). A few TALE targets have been characterized and EBE are usually found upstream of susceptibility genes, which promotes bacterial infection. For example, TALEs from diverse *Xanthomonas* species induce genes encoding sugar transporters from the SWEET

family (Cohn *et al.*, 2014; Cox *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2014; Streubel *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2015) leading to sugar export, which is hypothesized to provide a nutritive source for the bacteria (Chen *et al.*, 2010, 2012; Zeng *et al.*, 2015). Genes encoding transcription factors, sulphate transporter and dioxygenase can also be overexpressed by TALEs to promote infection (Abe and Benedetti, 2016; Cernadas *et al.*, 2014; Römer *et al.*, 2010; Schwartz *et al.*, 2017; Sugio *et al.*, 2007; Tran *et al.*, 2018). In some cases, EBEs are found in the promoter region of resistance genes called "executor", whose induction leads to a defence reaction of the plant (Boch *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015). Alternatively, mutations within the EBE can lead to the abolition of TALE-EBE binding, leading to resistance by loss of susceptibility (Chu *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2006).

The TALE structure is composed of a conserved N-terminal region containing a type III secretion signal and a conserved C-terminal region containing nuclear-localization signals and an acidic activation domain able to bind to the gamma subunit of transcription factor IIA (Huang *et al.*, 2017; Szurek *et al.*, 2002; Zhu *et al.*, 1998). The central region of TALEs consists of a variable number of tandem repeats of 33 to 35 amino acids each. The amino acids at positions 12 and 13 of each repeat are highly polymorphic and called Repeat Variable Diresidue (RVD). Each RVD binds more or less specifically to one or a few nucleotides (Yang *et al.*, 2014). Therefore, the RVD sequence of a TALE determines its binding specificity to a given EBE following the TALE code (Boch *et al.*, 2009; Moscou and Bogdanove, 2009). It was shown that the residue at position 12 of the repeat is involved in the linkage stability, while the residue at position 13 is responsible for DNA binding specificity (Mak *et al.*, 2012).

Crystallization assays showed that each TALE repeat is composed of two α helices (one short and one long) connected by a short loop formed by the two amino acids corresponding to the RVD (Deng *et al.*, 2012a; Mak *et al.*, 2012). Consecutive repeats build a right-handed helical structure able to wrap around the DNA superhelix. Binding to the EBE is thought to be a dynamic process involving sliding of the TALE on the host DNA (Cuculis *et al.*, 2015). TALE search along DNA is achieved using a rotationally decoupled state associated with a loose conformation of the helical TALE structure (Cuculis *et al.*, 2016), while binding to the EBE involves a conformational switch resulting in the reduction of the TALE length (Deng *et al.*, 2012a; Murakami *et al.*, 2010). This plasticity of the TALE suggests that, apart from the RVD, the overall structure of the repeats may participate to the strength and specificity of the binding to DNA. For example, repeats of unusual length can modify the DNA-binding behaviour of TALEs (Richter *et al.*, 2014).

The modular architecture of TALE repeats led to the development of cloning kits to construct designer TALEs (dTALEs) with any binding specificity (Boch *et al.*, 2009; Morbitzer *et al.*, 2010). Initially, dTALEs were used for cracking the TALE code (Boch *et al.*, 2009) and inducing the transcription of genes in plant or other eukaryotes (Bogdanove and Voytas, 2011; Geißler *et al.*, 2011). Additional uses came from modifications of the C-terminal domain, allowing to engineer transcriptional suppressors (Cong *et al.*, 2012) or TALE nucleases (TALEN) for genome editing (Cermak *et al.*, 2011; Christian *et al.*, 2012).

Table 1. Constructions produced for GUS assays and pathogenicity tests.

Repeats

Name	Sequence
HY-LTPE	LTPEQVVAIAS**HY**GGKQALETVQRLLPVLCQAHG
HY-MTLA	MTLAQVVAIAS**HY**GGKQALETVQRLLPVLCQAHG
NG-MTLA	MTLAQVVAIAS**NG**GGKQALETVQRLLPVLCQAHG
other	LTPEQVVAIASXXGGKQALETVQRLLPVLCQAHG

dTALEs for *GUS* assays

Name	RVD sequence	GUS reporter[a]
1HY-LTPE	NI-HD-NI-HD-HD-HD-**HY**-NS-NS-HD-NI-NG	GUS-2X
2HY-LTPE	NI-HD-NI-HD-HD-HD-**HY-HY**-NS-HD-NI-NG	GUS-2X
3HY-LTPE	NI-HD-NI-HD-HD-HD-**HY-HY-HY**-HD-NI-NG	GUS-3X
4HY-LTPE	NI-HD-NI-HD-HD-HD-**HY-HY-HY-HY**-NI-NG	GUS-4X
2HYv2-LTPE	NI-HD-NI-HD-HD-HD-HY-NS-HY-HD-NI-NG	GUS-3X
2HYv3-LTPE	NI-HD-NI-HD-HD-HD-HY-NS-NS-HY-NI-NG	GUS-4X
1HY-MTLA	NI-HD-NI-HD-HD-HD-HY-NS-NS-HD-NI-NG	GUS-2X
2HYv2-MTLA	NI-HD-NI-HD-HD-HD-HY-NS-HY-HD-NI-NG	GUS-3X
2HYv3-MTLA	NI-HD-NI-HD-HD-HD-HY-NS-NS-HY-NI-NG	GUS-4X

GUS reporter

Name	EBE sequence	dTALE tested
GUS-2A	A C A C C C **A A** A C A T	1HY; 2HY
GUS-2T	A C A C C C **T T** A C A T	1HY; 2HY
GUS-2G	A C A C C C **G G** A C A T	1HY; 2HY
GUS-2C	A C A C C C **C C** A C A T	1HY; 2HY
GUS-3A	A C A C C C **A A A** C A T	3HY; 2HYv2
GUS-3T	A C A C C C **T T T** C A T	3HY; 2HYv2
GUS-3G	A C A C C C **G G G** C A T	3HY; 2HYv2
GUS-3C	A C A C C C **C C C** C A T	3HY; 2HYv2
GUS-4A	A C A C C C **A A A A** A T	4HY; 2HYv3
GUS-4T	A C A C C C **T T T T** A T	4HY; 2HYv3
GUS-4G	A C A C C C **G G G G** A T	4HY; 2HYv3
GUS-4C	A C A C C C **C C C C** A T	4HY; 2HYv3

dTALEs for pathogenicity test

Name	RVD sequence
dTAL18H-LTPE	NI-NG-HD-NG-HD-NI-NG-NI-HD-**HY**-NN-N*-HD-NG-**HY**-NN-HD-NG
dTAL18H-MTLA	NI-NG-HD-NG-HD-NI-NG-NI-HD-HY-NN-N*-HD-NG-HY-NN-HD-NG

a: X corresponds to A, T, G or C, as detailed in the second section of the table

Common Bacterial Blight of bean (CBB) is a severe bacterial disease of common bean (*Phaseolus vulgaris*), causing significant yield losses everywhere common bean is cultivated (EFSA, 2014). CBB is due to *X. phaseoli* pv. *phaseoli* (*Xpp*) and *X. citri* pv. *fuscans* (*Xcf*). Although phylogenetically distant, *Xpp* and *Xcf* cause identical symptoms on common bean. This pathological convergence is associated with the horizontal transfer of dozens of genes (Aritua *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2018) including two TALE-encoding genes (*tal*) located on plasmids (Ruh *et al.*, 2017). In all, nine *tal* genes and alleles with different RVD sequences were identified in *Xpp-Xcf*, among which *tal18H* encodes a TALE of 17.5 repeats corresponding to 18 RVDs (Ruh *et al.*, 2017). Deletion of *tal18H* in *Xpp* strain 6546R leads to reduced symptoms, suggesting that TAL18H is involved in the pathogenicity of the strain (Foucher *et al.* in prep). Interestingly, TAL18H bears the atypical RVD HY within its 10th and 15th repeats (Ruh *et al.*, 2017). Moreover, HY is carried by atypical repeats starting with an MTLA motif that, to our knowledge, has never been described to date. Here, we analysed the impact of TAL18H on the pathogenicity of *Xpp* strain 6546R and performed binding specificity assays using dTALEs to characterize the role of HY and its associated MTLA motif.

MATERIALS AND METHODS

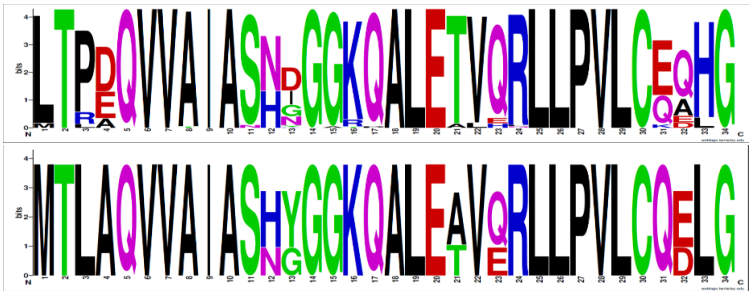
Plant material, bacterial strains and growing conditions

The original seeds from susceptible common bean cultivar JaloEEP558 were obtained from the Center for Tropical Agriculture (CIAT, Colombia) and are available under accession number G9603. Plants were grown as described in (Foucher *et al.* in prep). *Nicotiana benthamiana* plants were grown in the greenhouse at 23°C/19°C (day/night) with 60% relative humidity and a 16 h photoperiod. Bacterial strains used for this study are listed in Table S1. *Xpp* strains and derivatives were grown at 28 °C for 48 h on Trypticase Soya Agar (TSA) medium (17.0 g.L^{-1} pancreatic digest of casein, 3.0 g.L^{-1} enzymatic digest of soya bean, 5.0 g.L^{-1} NaCl, 2.5 g.L^{-1} K_2HPO_4, 2.5 g.L^{-1} glucose and 15 g.L^{-1} agar), then at 28 °C for 24 h on TSA10 (a 1/10 dilution of TSA, except for agar maintained at 15 g.L^{-1}) to obtain fresh cultures. *A. tumefaciens* was cultivated at 28°C for 48 h on YEB medium (5.0 g.L^{-1} peptone of meat, 5.0 g.L^{-1} peptone of casein, 5.0 g.L^{-1} sucrose, 1.0 g.L^{-1} yeast extract and 15 g.L^{-1} agar), then at 28°C for 24 h to obtain fresh grown bacteria. Plasmids with different constructions were introduced by electroporation into *Xpp* and *A. tumefaciens*. When needed, antibiotics were added to the medium at the following final concentrations: rifamycin at 50 mg.L^{-1}, gentamicin at 20 mg.L^{-1} and rifampicin, spectinomycin, carbanicillin or kanamycin at 100 mg.L^{-1}.

Construction of dTALEs and GUS reporters

dTALEs were constructed based on a *Hax3* backbone using the Golden TAL technology kit (Geißler *et al.*, 2011), into the Golden Gate-compatible expression vectors pSKX1 for expression in *Xpp* or pSKA2 for expression in *A. tumefaciens*. Using this kit, modules carrying HD repeats were modified by PCR with specific primers (Table S2) to produce modules carrying HY repeats, then HY and NG repeats were modified to start with an MTLA motif instead of LTPE (Table 1). PCR products were inserted into the pUC57 plasmid and verified

(A)



(B)

```
LTPD   CTGACCCCGGAC
LTPE   CTGACCCCGGAG
LTRE   CTGACCCGGGAG
LTPA1  CTGACCCCGGCC
LTPA2  CTGACCCCGGCA
LTPA3  CTGACCCCGGCG
MTLA   ATGACCCTGGCG
LNPD   CTGAACCCGGAC
```

(C)

```
TAL18H[a]  NI NG HD NG HD NI NG NI HD HY NN N* HD NG HY NN HD NG
TAL18H[b]  NI NG HD NG HD NI NG NI HD HY NN N* HD NG HY NN HD NG
TAL20F     N* HD HD NG NG NI NG NI NI NN NI HD HD HD HD HD NI HD NK NG
TAL18G     N* HD HD NG NG NI NG NI NI NN NI HD HD HD -- -- NI HD NK NG
TAL23A[a]  NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD NI HD NI HD HD HD HD HD NG NG
TAL23A[b]  NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD NI HD NI HD HD HD HD HD NG NG
TAL22B     NI NG NI NG NI NN NG NN HD NN NN NN HD NI HD NI HD HD HD HD HD NG --
TAL22C     -- NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD NI HD NI HD HD HD HD HD NG NG
TAL19E     NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN -- -- HD NI HD HD HD HD -- -- NG
TAL21D     NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD -- HD NI HD HD HD HD -- NG HD
TAL19I     NI NG NI NG NI NN NG NN HD HD NN NN HD -- HD NI HD HD -- -- -- NG HD
```

Figure 1. Details on the four amino acid motifs found at the start of TALE repeats. Weblogos (https://weblogo.berkeley.edu/) based on 689 repeats from 34 TALEs found in the whole genome of 17 *Xpp-Xcf* strains (up) or the 27 repeats starting with MTLA (down) (**A**). Alignment of the first 12 nucleotides from the repeats found in *tal* genes from *Xpp-Xcf* (**B**). Polymorphisms compared to the LTPD repeat are highlighted in light grey. RVD sequences of the nine TALEs from *Xpp-Xcf* (**C**). The six alleles of XfuTAL1 are underlined. Colours correspond to the start motif of the repeat, as indicated in (B). Exponents a or b indicate TALEs with identical RVD sequences but diverging in start motif sequences. Dashes correspond to putative indels.

by BpiI digestion coupled with SANGER sequencing. Size and sequence of complete dTALEs were verified by NdeI and Hind III digestion coupled with SANGER sequencing using primers pSEQ2843R and 300seq695F (Table S2). To construct GUS reporters, DNA sequences corresponding to the EBE of each dTALE and allowing to define HY binding specificities (Table 1) were generated using specific primers (Table S2) and inserted in plasmid pGWB3,upstream the minimal *Bs4* promoter followed by *uidA* (β-glucuronidase, GUS) reporter gene. For GUS assays, *A. tumefaciens* was transformed by electroporation with pSKA2 (dTALEs) or pGWB3 constructs (GUS reporters). For pathogenicity assays, *Xpp* strain 6546RΔ*tal18H* was transformed by electroporation with pSKX1 constructs for dTALEs expression (Table S1).

GUS assays

Leaves of *N. benthamiana* five to seven-weeks old were inoculated using a needleless syringe with a (1:1) mixture of *A. tumefaciens* (OD_{600nm} = 0.8) containing the pSKA2 or pGWB3 constructs suspended in *Agrobacterium* Infiltration Medium (AIM : 0.01 M MES, 0.01 M $MgCl_2$ and 0.15 $mg.mL^{-1}$ acetosyringone). At 2 dpi, three leaf disks per inoculated spot were cut with a 0.9 cm borer. One disk was used for qualitative GUS assay while the two other disks were used for the quantification of GUS activity. For qualitative GUS assay, leaf disks were incubated overnight at 37°C in GUS staining solution (10 mM sodium phosphate buffer pH 7.0, 10 mM EDTA ph 8.0, 1 mM potassium ferricyanide, 1 mM potassium ferrocyanide, 0.1 % TritonTM X-100 and 0.1 % X-Gluc), then bleached in ethanol at 96 % and dried between cellophane sheets as described previously (Schornack *et al.*, 2005). For quantification of GUS activity, leaf disks were frozen in liquid nitrogen and ground in tubes containing two grinding balls using a mixer mill for 40 seconds at 30 Hz. Proteins were extracted with 300 µL of GUS extraction buffer (50 mM sodium phosphate buffer pH 7.0, 10 mM EDTA pH 8.0, 0.1 % SDS, 0.1 % TritonTM X-100 and 10 mM β-mercaptoethanol). Samples were centrifuged for 5 min at 14,000 rpm and 10 µL of supernatants were incubated in 90 µL of 4-Methylumbelliferyl-β-D-Glucuronide Trihydrate (MUG) buffer (50 mM sodium phosphate buffer pH 7.0, 10 mM EDTA pH 8.0, 0.1 % SDS, 0.1 % TritonTM X-100, 10 mM β-mercaptoethanol and 5 mM MUG) at 37°C during 60 to 90 min (Kay *et al.*, 2007). GUS activity was stopped with a solution of Na_2CO_3 at 0.2 M and quantified by emission of fluorescence at 460 nm preceded by three excitation flashes at 360 nm and an integration time of 40 µs. Proteins were quantified using Bradford assay (Bradford, 1976). All assays were carried out twice and triplicate samples from different plants were combined into one data point.

Pathogenicity assays

Inoculations were performed following the method developed by (Foucher *et al.* in prep), consisting of rubbing first leaves of JaloEEP558 with an *Xpp* bacterial suspension at 1×10^7 $CFU.mL^{-1}$. Symptom quantification was carried out at 14 days post inoculation (dpi) using machine learning-based imaging, as described in Foucher *et al.* (in prep). The quantity of symptoms was expressed in square root of cm^2 of symptomatic leaf using a scale on each RGB image. Bacterial populations were estimated at 14 dpi. For each plant, four disks were trimmed

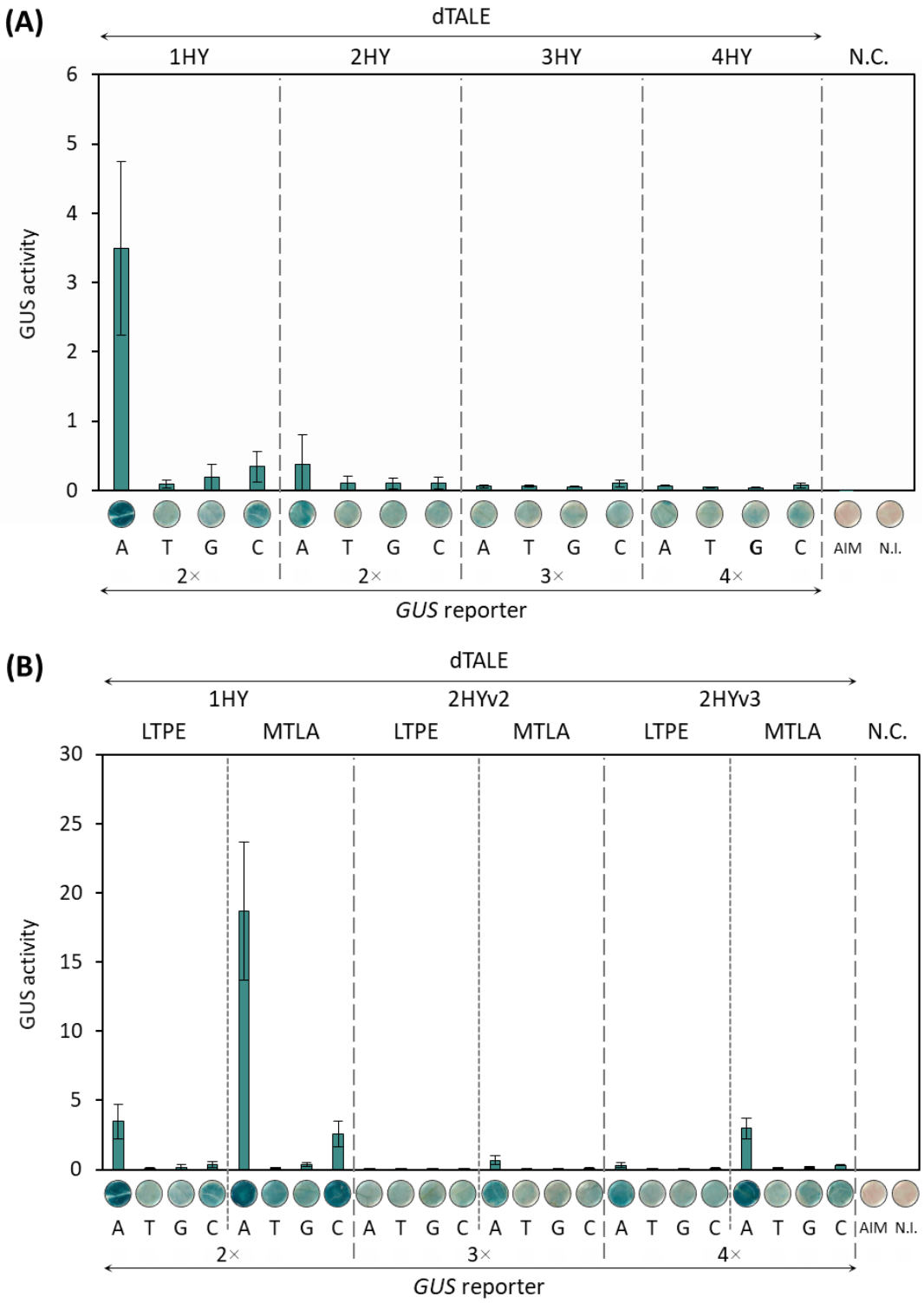


Figure 2. Binding specificity of HY and impact of the MTLA motif. Sequences of dTALE and GUS reporter are described in Table 1. GUS activity is expressed as pmol of 4-methylumbelliferone per minute per µg of total protein (pmol 4-MU min^{-1} $µg^{-1}$ protein). Negative controls (N.C.) correspond to samples of non-inoculated *N. benthamiana* leaves (N.I.) or *N. benthamiana* leaves inoculated with bacterial-free infiltration medium (AIM). Binding specificity of HY in an LTPE repeat according to the number of successive HY (**A**). Impact of distance between two HY RVD and of the MTLA motif (2HYv2 = HY-NS-HY and 2HYv3 = HY-NS-NS-HY) (**B**).

at the beginning of each rubbing area with a 1.3 cm diameter borer. Disks were ground for 2 min in 4 mL of distilled water, using a Stomacher 80 (Seward, London, United Kingdom). Appropriate dilutions of the samples were plated on TSA10 medium supplemented with appropriate antibiotics and incubated at 28°C for 72 h before counting colony-forming units (cfu).

RESULTS

The atypical structure of TAL18H repeats

Within 34 TALEs from 17 *Xpp-Xcf* whole genomes (Ruh *et al.*, 2017), we identified 689 repeats, among which 34 corresponded to half repeats, as usually found at the end of the TALE repeat region (Boch *et al.*, 2009). The 655 complete repeats were all canonical repeats of 33 or 34 amino acids each, depending on the occurrence of the RVD N* that lacks residue 13 (Boch *et al.*, 2009). Apart from the RVD, residues 3, 4, 31 and 32 were highly polymorphic (Fig. 1A). Interestingly, few repeats started with a methionine, which was quite unexpected as all TALE and RipTAL repeats described to date start with a conserved leucine or, in the case of Bats and MOrTLs, by a phenylalanine (De Lange *et al.*, 2015). These unusual repeats were found at positions 10, 14 and 15 of TAL18H and all started with a unique MTLA motif. Among the 689 repeats found in *Xpp-Xcf*, a large majority started with LTPD, and the next most abundant motifs were LTPE and LTRE (Fig. 1B). LTPA motifs were encoded by three different nucleotide sequences. LTPA1 was specific to *Xfutal1* alleles while LTPA2 was specific to TAL18G and TAL20F, which are paralogues (Ruh *et al.*, 2017). LTPA3, LNPD and MTLA were specific to TAL18H, suggesting that they appeared recently in CBB agents. LTPA3 had the closest sequence to MTLA, suggesting that MTLA derived from LTPA3 repeats. Moreover, MTLA repeats comprised the unusual RVD HY at positions 10 and 15. HY is a rare RVD previously reported in only five TALEs from *X. oryzae* pv. *oryzicola*, and one RipTAL from *Ralstonia solanacearum* (De Lange *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2013; Wilkins *et al.*, 2015), and whose binding specificity is obscure (Yang *et al.*, 2014).

HY binds preferentially to adenine

To characterize the binding specificity and efficiency of HY, we constructed different combinations of dTALEs containing RVDs with known specificity plus one or more HY, and corresponding GUS reporters having each nucleotide (A, T, C or G) facing HY (Table 1). Different combinations of dTALE and GUS reporter were tested by evaluating the GUS activity on *N. benthamiana*. HY possessed a binding specificity for adenine, and a slight GUS activity was also observed for cytosine (Fig. 2A). GUS activity was greatly impaired when two consecutive HY repeats were used, and completely lost when increasing the number of consecutive HY repeats. HY binding to adenine was abolished for two HY separated with one NS, an RVD able to bind every nucleotide. A slight binding was observed when HY was separated by two NS, although GUS activity was very weak (Fig. 2B).

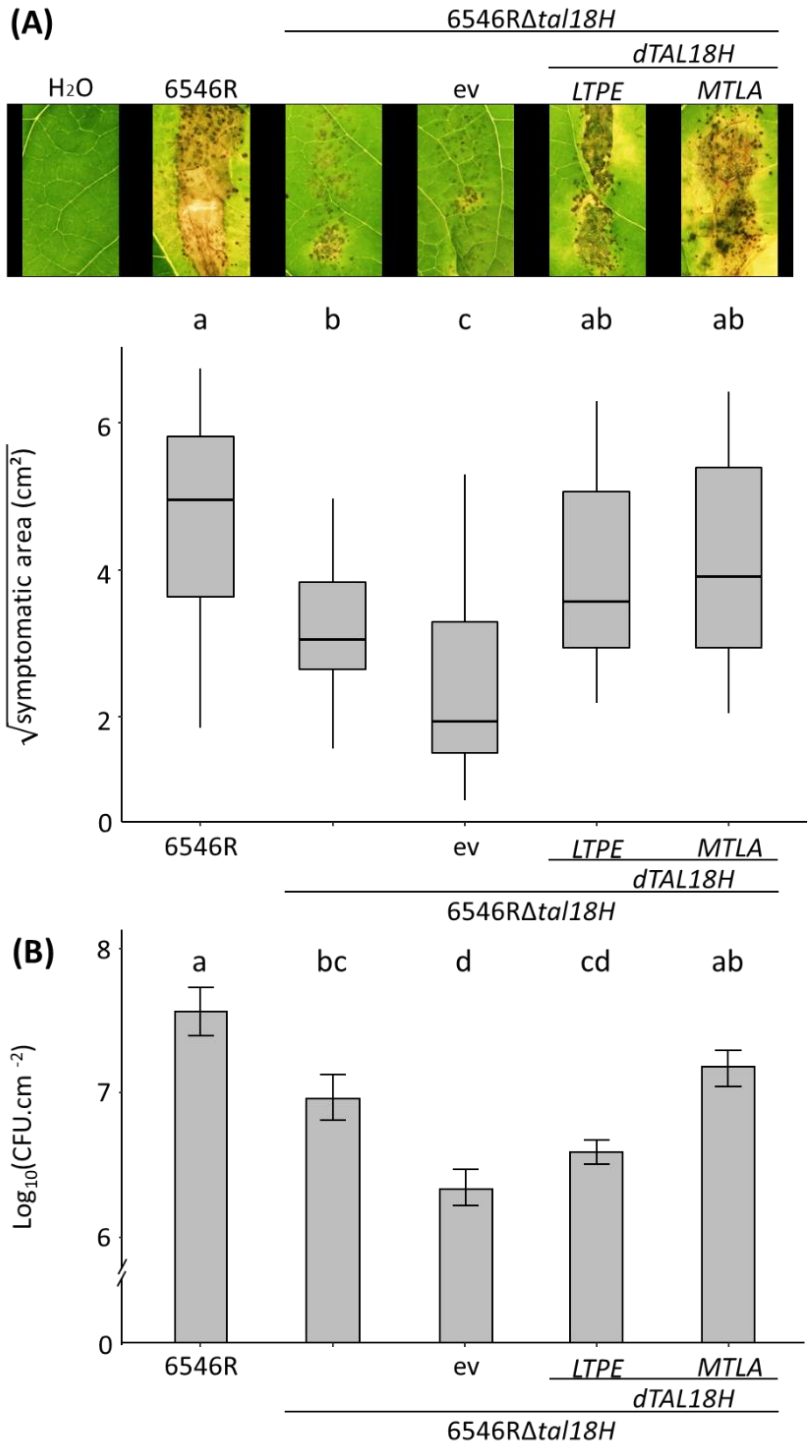


Figure 3. TAL18H contributes to CBB symptoms and *in planta* bacterial growth. Phenotypes of common bean leaves infected by *Xpp* carrying TAL18H (**A**). First leaves of JaloEEP558 plants were inoculated by rub-inoculation with water, 6546R, 6546RΔ*tal18H*, and 6546RΔ*tal18H* carrying an empty vector (ev) or dTAL18H-LTPE or -MTLA. Phenotyping was performed at 14 dpi. Results represent two combined experiments (n = 20). Different letters indicate significant differences (*p*-value < 0.05, Mann-Whitney test). Pictures above correspond to leaves with median symptoms. Bacterial growth in primary leaves at 14 dpi (**B**). Bacteria were inoculated as described in (A) and results represent one experiment (n = 5). Bars with the same letters are not statistically different (*p*-value < 0.05, Mann-Whitney test). Error bars indicate ± SD.

MTLA increases HY binding to adenine

To study the impact of the MTLA motif on HY binding specificity, we modified the first four amino acids of the HY-containing repeat from LTPE to MTLA (Table 1). Interestingly, HY binding efficiency to adenine increase over 5-fold with MTLA compared to LTPE (Fig. 2B). In addition, HY acquired the ability to bind cytosine, although to a lesser extent than adenine. In the case of two HY separated by one NS, binding to cytosine was abolished, while binding efficiency to adenine was weakened. A rescue of HY binding efficiency to adenine was observed for two HY separated by two NS, to levels similar to a single HY within an LTPE repeat (Fig. 2B).

TAL18H promotes CBB symptoms

As already shown, the aggressiveness of mutant strain 6546RΔ*tal18H* was impaired compared to the wild type (wt) strain (Fig 3A) (Foucher *et al.* in prep). Complementation of mutant with ev further reduced symptoms, indicating that the plasmid used for complementation has a negative impact on symptoms development. However, complementation of mutant with *dTAL18H-LTPE* or *-MTLA* nearly restored the virulence of its parental strain level as no significant difference was observed, and induced significantly more symptoms than mutant complemented with an empty vector (ev), thus validating the role of TAL18H in the pathogenicity of 6546R. Interestingly, symptoms after complementation with *dTAL18H-MTLA* were slightly higher than with *dTAL18H-LTPE*, although the difference was not significant (*p*-value = 0.9). In addition, we observed a higher statistically significant difference between dTAL18H-MTLA and ev (*p*-value = 4.7×10^{-4}) than between dTAL18H-LTPE and ev (*p*-value = 1.2×10^{-3}). This suggested that TAL18H carrying MTLA repeats was slightly more effective at inducing symptoms than TAL18H carrying LTPE repeats.

MTLA promotes *in planta* bacterial multiplication

Evaluation of bacterial populations sizes of wt and mutant deleted of TAL18H showed that TAL18H was able to significantly promote *in planta* bacterial multiplication at 14 dpi. Indeed, significant differences were observed between the wild-type and mutant strain population sizes (*p*-value = 3.2×10^{-2}) while the growth of both strains was identical in synthetic medium (Foucher *et al.* in prep). As in the case of symptoms, complementation of mutant with ev has a negative impact on the bacterial population size. Interestingly, bacterial population sizes were significantly higher after complementation of mutant with *dTAL18H-MTLA* than with *dTAL18H-LTPE* (*p*-value = 2.1×10^{-2}) or ev (*p*-value = 7.9×10^{-3}), while no significant difference was detected between ev- and *dTAL18H-LTPE*-complemented mutant (*p*-value = 0.4). These results show that MTLA repeats in TAL18H improves the ability of 6546R to multiply in common bean.

DISCUSSION

TAL18H has an unusual repetition structure as it carries repeats starting with an MTLA motif associated with the unusual RVD HY. Here, we characterized the binding specificity of HY to adenine, and the positive role of the MTLA motif on HY binding specificity. In addition, we highlighted the role of TAL18H in the pathogenicity of *Xpp*, and the importance of MTLA repeats for promoting bacterial growth during CBB infection.

The maintenance of TAL18H in phylogenetically distant strains of *Xcf* and *Xpp* (Ruh *et al.*, 2017) and its role in pathogenicity underscore the importance of TAL18H for CBB agents. Maintenance of the MTLA repeat, together with HY also suggest that these motifs are important for TAL18H function. Here, we point out that TAL18H with LTPE or MTLA repeats are both able to increase CBB symptoms, suggesting that the putative susceptibility gene targeted by TAL18H is induced independently of LTPE or MTLA repeats. However, it appears that only TAL18H carrying MTLA repeats can promote bacterial growth during infection. This additional functional gain with the MTLA motif could eventually be related to the ability of the MTLA motif to modify the binding capacity and/or efficiency of HY. Indeed, modification of HY properties by MTLA could lead TAL18H to induce more or less its target, and/or to fix a new EBE in another target gene that could potentially promote bacterial growth. The promotion of bacterial growth by T3E could be the result of the manipulation of several biological processes such as plant defences inhibition (Abramovitch and Martin, 2004) or the release of useful plant nutrients (Chen, 2014; Fatima and Senthil-Kumar, 2015). To better understand the role of the MTLA motif in TAL18H, it would be interesting to perform a comparative RNA-Seq analysis between plants infected with 6546RΔ*tal18H* + dTAL18H-LTPE or with 6546RΔ*tal18H* + dTAL18H-MTLA. Furthermore, comparison of RNA-Seq data with *in silico* predictions of target genes could indicate potential targets for TAL18H.

TALE binding to DNA is a complex and fine-tune mechanism involving a direct interaction between plant nucleotides and the 13th residue of each TALE repeat (Deng *et al.*, 2012a; Mak *et al.*, 2012). In some cases, hydrogen bonds can be formed between consecutive RVDs illustrating that the steric environment can be important for successful TALE-DNA binding (Deng *et al.*, 2012a). Here, the 13th residue of HY repeat is a tyrosine (Y), an aromatic residue rarely found in any other TALE described to date (De Lange *et al.*, 2013; Wilkins *et al.*, 2015). It is tempting to speculate that the tyrosine of the HY RVD would create a steric hindrance interfering with correct binding to DNA and, in view of our results, that the MTLA motif would somehow alleviate this steric hindrance, which would increase HY binding efficiency to adenine. It would be interesting to verify whether this MTLA motif generates the same type of result for other RVD, in particular for NG, which is present in another MTLA repeat from TAL18H.

CONCLUSION

Through the study of the atypical TAL18H structure, we highlighted new details in the functioning of *Xanthomonas* TALEs. Our results underline that the repeat structure outside of the RVD can be important for TALEs binding specificity, and could help TALEs to have pleiotropic effects *in planta*. In addition to increasing our knowledge of TALE-binding mechanistic, this study offers an opportunity to broaden the use of dTALEs and TALENs. Indeed, a stumbling block for the development of artificial TALEs resides in the lack of RVD with strong binding to adenine and thymine, which prevents targeting A/T-rich regions (Streubel *et al.*, 2012). Therefore, the finding of repeats with strong binding to adenine constitutes an important step towards broadening the possibilities offered by synthetic TALE-based methods.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Daniel Sochard for *in planta* experiments. The authors also thank the French Network on *Xanthomonads* (FNX) (https://www.reseau-xantho.org/) and particularly Laurent D. Noël, Boris Szurek, Lionel Gagnevin and Ralf Koebnik for recurrent scientific exchanges on *Xanthomonas*. We thank the CIRM-CFBP (Angers, France) for strain preservation and supply. This article is based upon work from COST Action CA16107 EuroXanth, supported by COST (European Cooperation in Science and Technology).

AUTHORS CONTRIBUTION

MR, JF, MAJ and NWGC designed the study and wrote the manuscript. MR, SBe and JB contributed in RVD binding specificity analyses. JF, SBo, and NWGC contributed to CBB phenotyping. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

FUNDING

This study was supported by the French National Research Agency CROpTAL project to NWGC (ANR-14-CE19–0002-04). MR was funded by a PhD grant (X-HOT project) from Angers-Loire Metropole, France, and an Erasmus+ mobility grant. JF is funded by a PhD grant (BRUTAL project) from the Plant Health and Environment division of the French National Research Institute for Agriculture, Food and Environment (INRAE-SPE) and the region Pays de la Loire, France. The funding bodies did not participate in any of the study design, data collection and analysis, or writing the manuscript.

ABBREVIATION

AIM: Agrobacterium Infiltration Medium; CBB: Common Bacterial Blight; CIAT: Centro Internacional de Agricultura Tropical; cfu; colony-forming units; dTALE: designer TALE; EBE: Effector Binding Element; GUS: β-glucuronidase; MU: methylumbelliferone; MUG: Methylumbelliferyl-β-D-Glucuronide Trihydrate; dpi: days post-inoculation; RVD: Repeat Variable Diresidue; T3E: Type III Effectors; T3SS: Type III Secretion System; *tal*: TALE-

encoding gene; TALE: Transcription Activator-Like Effector; TSA: Trypticase Soy Agar; wt : wild type; *Xpp*: *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*; *Xcf*: *Xanthomonas citri* pv. *fuscans*.

REFERENCES

Abe, V. Y., and Benedetti, C. E. (2016). Additive roles of PthAs in bacterial growth and pathogenicity associated with nucleotide polymorphisms in effector-binding elements of citrus canker susceptibility genes. Mol. Plant Pathol. 17, 1223–1236. doi:10.1111/mpp.12359.

Abramovitch, R. B., and Martin, G. B. (2004). Strategies used by bacterial pathogens to suppress plant defenses. Curr. Opin. Plant Biol. 7, 356–364. doi:10.1016/j.pbi.2004.05.002.

Aritua, V., Harrison, J., Sapp, M., Buruchara, R., Smith, J., and Studholme, D. J. (2015). Genome sequencing reveals a new lineage associated with lablab bean and genetic exchange between Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and Xanthomonas fuscans subsp. fuscans. Front. Microbiol. 6, 1–18. doi:10.3389/fmicb.2015.01080.

Boch, J., and Bonas, U. (2010). Xanthomonas AvrBs3 family-type III effectors: discovery and function. Annu. Rev. Phytopathol. 48, 419–436. doi:10.1146/annurev-phyto-080508-081936.

Boch, J., Bonas, U., and Lahaye, T. (2014). TAL effectors--pathogen strategies and plant resistance engineering. New Phytol. 204, 823–832. doi:10.1111/nph.13015.

Boch, J., Scholze, H., Schornack, S., Landgraf, A., Hahn, S., Kay, S., *et al.* (2009). Breaking the Code of DNA Binding Specificity of TAL-Type III Effectors. Science. 326, 1509–1512. doi:10.1126/science.1178811.

Bogdanove, A. J., and Voytas, D. F. (2011). TAL effectors: Customizable proteins for DNA targeting. Science. 333, 1843–1846. doi:10.1126/science.1204094.

Bonas, U., Stall, R. E., and Staskawicz, B. (1989). Genetic and structural characterization of the avirulence gene avrBs3 from Xanthomonas campestris pv. vesicatoria. MGG Mol. Gen. Genet. 218, 127–136. doi:10.1007/BF00330575.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248–254.

Büttner, D., and Bonas, U. (2010). Regulation and secretion of Xanthomonas virulence factors. FEMS Microbiol. Rev. 34, 107–133. doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00192.x.

Cermak, T., Doyle, E. L., Christian, M., Wang, L., Zhang, Y., Schmidt, C., *et al.* (2011). Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting. Nucleic Acids Res. 39, 1–11. doi:10.1093/nar/gkr218.

Cernadas, R. A., Doyle, E. L., Nino-Liu, D. O., Wilkins, K. E., Bancroft, T., Wang, L., *et al.* (2014). Code-Assisted Discovery of TAL Effector Targets in Bacterial Leaf Streak of Rice Reveals Contrast with Bacterial Blight and a Novel Susceptibility Gene. Plos Pathog. 10. doi:10.1371/journal.ppat.1003972.

Chen, L. (2014). SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. New Phytol. 201, 1150–1155. doi:10.1111/nph.12445.

Chen, L., Hou, B., Lalonde, S., Takanaga, H., Hartung, M. L., Qu, X., *et al.* (2010). Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. Nature 468, 527–532. doi:10.1038/nature09606.

Chen, L., Qu, X., Hou, B., Sosso, D., Osorio, S., Fernie, A. R., *et al.* (2012). Sucrose efflux mediated by SWEET proteins as a key step for phloem transport. Science. 335, 207–211. doi:10.1126/science.1213351.

Chen, N. W. G., Serres-Giardi, L., Ruh, M., Briand, M., Bonneau, S., Darrasse, A., *et al.* (2018). Horizontal gene transfer plays a major role in the pathological convergence of Xanthomonas lineages on common bean. BMC Genomics 19, 1–20. doi:10.1186/s12864-018-4975-4.

Christian, M. L., Demorest, Z. L., Starker, C. G., Osborn, M. J., Nyquist, M. D., Zhang, Y., *et al.* (2012). Targeting G with TAL Effectors: A Comparison of Activities of TALENs Constructed with NN and NK Repeat Variable Di-Residues. PLoS One 7. doi:10.1371/journal.pone.0045383.

Chu, Z., Fu, B., Yang, H., Xu, C., Li, Z., Sanchez, A., *et al.* (2006). Targeting xa13, a recessive gene for bacterial blight resistance in rice. Theor. Appl. Genet. 112, 455–461.

Cohn, M., Bart, R. S., Shybut, M., Dahlbeck, D., Gomez, M., Morbitzer, R., *et al.* (2014). Xanthomonas axonopodis virulence is promoted by a transcription activator-like effector-mediated induction of a SWEET sugar transporter in cassava. Mol. Plant Microbe Interact. 27, 1186–1198. doi:10.1094/MPMI-06-14-0161-R.

Cong, L., Zhou, R., Kuo, Y., Cunniff, M., and Zhang, F. (2012). Comprehensive Interrogation of Natural TALE DNA Binding Modules and Transcriptional Repressor Domains. Nat. Commun. 3, 968. doi:10.1038/ncomms1962.

Cox, K. L., Meng, F., Wilkins, K. E., Li, F., Wang, P., Booher, N. J., *et al.* (2017). TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. Nat. Commun. 24, 15588. doi:10.1038/ncomms15588.

Cuculis, L., Abil, Z., Zhao, H., and Schroeder, C. M. (2015). Direct observation of TALE protein dynamics reveals a two-state search mechanism. Nat. Commun. 6, 1–11. doi:10.1038/ncomms8277.

Cuculis, L., Abil, Z., Zhao, H., and Schroeder, C. M. (2016). TALE proteins search DNA using a rotationally decoupled mechanism. Nat. Chem. Biol. 12, 831–837. doi:10.1038/nchembio.2152.

De Lange, O., Binder, A., and Lahaye, T. (2014). From dead leaf, to new life: TAL effectors as tools for synthetic biology. Plant J. 78, 753–771. doi:10.1111/tpj.12431.

De Lange, O., Schreiber, T., Schandry, N., Radeck, J., Braun, K. H., Koszinowski, J., *et al.* (2013). Breaking the DNA-binding code of Ralstonia solanacearum TAL effectors provides new possibilities to generate plant resistance genes against bacterial wilt disease. New Phytol. 199, 773–786. doi:10.1111/nph.12324.

De Lange, O., Wolf, C., Thiel, P., Krüger, J., Kleusch, C., Kohlbacher, O., *et al.* (2015). DNA-binding proteins from marine bacteria expand the known sequence diversity of TALE-like repeats. Nucleic Acids Res. 43, 10065–10080. doi:10.1093/nar/gkv1053.

Deng, D., Yan, C., Pan, X., Mahfouz, M., Wang, J., Zhu, J. K., *et al.* (2012). Structural basis for sequence-specific recognition of DNA by TAL effectors. Science. 335, 720–723. doi:10.1126/science.1215670.

EFSA Panel on Plant Health (PLH) (2014). Scientific Opinion on the pest categorisation of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and Xanthomonas fuscans subsp. fuscans. EFSA J. 12, 3856. doi:10.2903/j.efsa.2014.3856.

Fatima, U., and Senthil-Kumar, M. (2015). Plant and pathogen nutrient acquisition strategies. Front. Plant Sci. 6, 1–12. doi:10.3389/fpls.2015.00750.

Foucher, J., Ruh, M., Preveaux, A., Briand, M., Barbazange, F., Bonneau, S., *et al.* Improving common bacterial blight phenotyping by using machine learning : cheaper, better, faster, stronger . In prep.

Geißler, R., Scholze, H., Hahn, S., Streubel, J., Bonas, U., Behrens, S. E., *et al.* (2011). Transcriptional activators of human genes with programmable DNA-specificity. PLoS One 6, 1–7. doi:10.1371/journal.pone.0019509.

Hayward, A. C. (1993). The hosts of Xanthomonas. Xanthomonas, 1–119. doi:10.1007/978-94-011-1526-1_1.

Heuer, H., Yin, Y. N., Xue, Q. Y., Smalla, K., and Guo, J. H. (2007). Repeat domain diversity of avrBs3-like genes in ralstonia solanacearum strains and association with host preferences in the field. Appl. Environ. Microbiol. 73, 4379–4384. doi:10.1128/AEM.00367-07.

Hu, Y., Zhang, J., Jia, H., Sosso, D., Li, T., Frommer, W. B., *et al.* (2014). Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. Proc. Natl. Acad. Sci. 111, E521–E529. doi:10.1073/pnas.1313271111.

Huang, R., Hui, S., Zhang, M., Li, P., Xiao, J., Li, X., *et al.* (2017). A Conserved Basal Transcription Factor Is Required for the Function of Diverse TAL Effectors in Multiple Plant Hosts. Front. Plant Sci. 8, 1919.

Jacques, M.-A., Arlat, M., Boulanger, A., Boureau, T., Carrère, S., Cesbron, S., *et al.* (2016). Using Ecology, Physiology, and Genomics to Understand Host Specificity in Xanthomonas : French Network on Xanthomonads (FNX). Annu. Rev. Phytopathol. 54, annurev-phyto-080615-100147. doi:10.1146/annurev-phyto-080615-100147.

Juillerat, A., Bertonati, C., Dubois, G., Guyot, V., Thomas, S., Valton, J., *et al.* (2014). BurrH: A new modular DNA binding protein for genome engineering. Sci. Rep. 4, 1–6. doi:10.1038/srep03831.

Kay, S., Hahn, S., Marois, E., Hause, G., and Bonas, U. (2007). A Bacterial Effector Acts as a Plant Transcription Factor and Induces a Cell Size Regulator. Science. 318, 648–651. doi:10.1126/science.1144956.

Li, L., Atef, A., Piatek, A., Ali, Z., Piatek, M., Aouida, M., *et al.* (2013). Characterization and DNA-binding specificities of Ralstonia TAL-like effectors. Mol. Plant 6, 1318–1330. doi:10.1093/mp/sst006.

Liu, Q., Yuan, M., Zhou, Y., Li, X., Xiao, J., and Wang, S. (2011). A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to Xanthomonas oryzae in rice. Plant, Cell Environ. 34, 1958–1969. doi:10.1111/j.1365-3040.2011.02391.x.

Mak, A. N., Bradley, P., Cernadas, R. a, Bogdanove, A. J., and Stoddard, B. L. (2012). The crystal structure of TAL effector PthXo1 bound to its DNA target. Science. 335, 716–719.

Morbitzer, R., Römer, P., Boch, J., and Lahaye, T. (2010). Regulation of selected genome loci using de novo-engineered transcription activator-like effector (TALE)-type transcription factors. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 107, 21617–21622. doi:10.1073/pnas.1013133107.

Moscou, M., and Bogdanove, A. (2009). A Simple Cipher Governs DNA Recognition by TAL Effectors. Science 326, 1501.

Murakami, M. T., Sforça, M. L., Neves, J. L., Paiva, J. H., Domingues, M. N., Pereira, A. L. A., *et al.* (2010). The repeat domain of the type III effector protein PthA shows a TPR-like structure and undergoes conformational changes upon DNA interaction. Proteins Struct. Funct. Bioinforma. 78, 3386–3395. doi:10.1002/prot.22846.

Nakagawa, T., Kurose, T., Hino, T., Tanaka, K., Kawamukai, M., Niwa, Y., *et al.* (2007). Development of series of gateway binary vectors, pGWBs, for realizing efficient construction of fusion genes for plant transformation. J. Biosci. Bioeng. 104, 34–41. doi:10.1263/jbb.104.34.

Richter, A., Streubel, J., Blücher, C., Szurek, B., Reschke, M., Grau, J., *et al.* (2014). A TAL effector repeat architecture for frameshift binding. Nat. Commun. 5, 1–10. doi:10.1038/ncomms4447.

Römer, P., Recht, S., Strauß, T., Elsaesser, J., Schornack, S., Boch, J., *et al.* (2010). Promoter elements of rice susceptibility genes are bound and activated by specific TAL effectors from the bacterial blight pathogen, Xanthomonas oryzae pv. oryzae. New Phytol. 187, 1048–1057. doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03217.x.

Ruh, M., Briand, M., Bonneau, S., Jacques, M., and Chen, N. W. G. (2017). Xanthomonas adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. BMC Genomics 18, 1–18. doi:10.1186/s12864-017-4087-6.

Schornack, S., Peter, K., Bonas, U., and Lahaye, T. (2005). Expression levels of avrBs3-like genes affect recognition specificity in tomato Bs4- but not in pepper Bs3-mediated perception. Mol. Plant-Microbe Interact. 18, 1215–1225. doi:10.1094/MPMI-18-1215.

Schwartz, A. R., Morbitzer, R., Lahaye, T., and Staskawicz, B. J. (2017). TALE-induced bHLH transcription factors that activate a pectate lyase contribute to water soaking in bacterial spot of tomato. Proc. Natl. Acad. Sci. 114, E897–E903. doi:10.1073/pnas.1620407114.

Stella, S., Molina, R., Bertonatti, C., Juillerrat, A., and Montoya, G. (2014). Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of the novel modular DNA-binding protein BurrH in its apo form and in complex with its target DNA. Acta Crystallogr. Sect. FStructural Biol. Commun. 70, 87–91. doi:10.1107/S2053230X13033037.

Streubel, J., Blücher, C., Landgraf, A., and Boch, J. (2012). TAL effector RVD specificities and efficiencies. Nat. Biotechnol. 30, 593–595.

Streubel, J., Pesce, C., Hutin, M., Koebnik, R., Boch, J., and Szurek, B. (2013). Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to Xanthomonas oryzae pv. oryzae. New Phytol. 200, 808–819. doi:10.1111/nph.12411.

Sugio, A., Yang, B., Zhu, T., and White, F. F. (2007). Two type III effector genes of Xanthomonas oryzae pv. oryzae control the induction of the host genes OsTFIIAγ1 and OsTFX1 during bacterial blight of rice. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 104, 10720–10725. doi:10.1073/pnas.0701742104.

Szurek, B., Rossier, O., Hause, G., and Bonas, U. (2002). Type III-dependent translocation of the Xanthomonas AvrBs3 protein into the plant cell. Mol. Microbiol. 46, 13–23. doi:10.1046/j.1365-2958.2002.03139.x.

Timilsina, S., Potnis, N., Newberry, E. A., Liyanapathiranage, P., Iruegas-bocardo, F., White, F. F., *et al.* (2020). Xanthomonas diversity, virulence and plant–pathogen interactions. Nat. Rev. Microbiol. doi:10.1038/s41579-020-0361-8.

Tran, T. T., Pérez-Quintero, A. L., Wonni, I., Carpenter, S. C. D., Yu, Y., Wang, L., *et al.* (2018). Functional analysis of African Xanthomonas oryzae pv . oryzae TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf light of rice. PLoS Pathog. 14, e1007092. doi:10.1371/journal. ppat.1007092.

Van Larebeke, N., Engler, G., Holsters, M., Van Den Elsacker, S., Zaenon, I., Schilperoort, R. A., *et al.* (1974). Large plasmid in Agrobacterium tumefaciens essential for crown gall-inducing ability. Nature 252.

Wilkins, K. E., Booher, N. J., Wang, L., and Bogdanove, A. J. (2015). TAL effectors and activation of predicted host targets distinguish Asian from African strains of the rice pathogen Xanthomonas oryzae pv . oryzicola while strict conservation suggests universal importance of five TAL effectors. Front. Plant Sci. 6, 1–15. doi:10.3389/fpls.2015.00536.

Yang, B., Sugio, A., and White, F. F. (2006). Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. Proc. Natl. Acad. Sci. 103, 10503–8. doi:10.1073/pnas.0604088103.

Yang, J., Zhang, Y., Yuan, P., Zhou, Y., Cai, C., Ren, Q., *et al.* (2014). Complete decoding of TAL effectors for DNA recognition. Cell Res. 24, 628–631. doi:10.1038/cr.2014.19.

Zeng, X., Tian, D., Gu, K., Zhou, Z., Yang, X., Luo, Y., *et al.* (2015). Genetic engineering of the Xa10 promoter for broad-spectrum and durable resistance to Xanthomonas oryzae pv . oryzae. Plant Biotechnol. J., 993–1001.

Zhang, J., Yin, Z., and White, F. (2015). TAL effectors and the executor R genes. Front. Plant Sci. 6, 1–9.

Zhou, J., Peng, Z., Long, J., Sosso, D., Liu, B., Eom, J. S., *et al.* (2015). Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. Plant J. 82, 632–643. doi:10.1111/tpj.12838.

Zhu, W., Yang, B., Chittoor, J. M., Johnson, L. B., and White, F. F. (1998). AvrXa10 contains an acidic transcriptional activation domain in the functionally conserved C terminus. Mol. Plant-Microbe Interact. 11, 824–832. doi:10.1094/MPMI.1998.11.8.824.

Table S1. Bacterial strains and plasmids used in this study.

Strain or Plasmid	Characteristics	Reference
X. phaseoli pv. *phaseoli*		
6546R	rifamycin resistant derivative of CFBP6546	Ruh *et al.*, 2017
6546RΔ*tal18H*	*tal18H* deletion mutant; rifamycin resistant	Foucher *et al.*, in prep
6546RΔ*tal18H* + ev	*tal18H* deletion mutant carrying empty vector pSKX1; rifamycin and gentamicin resistant	This study
6546RΔ*tal18H* + dTAL18H-LTPE	*tal18H* deletion mutant carrying dTAL18H-LTPE in pSKX1 vector; rifamycin and gentamicin resistant	This study
6546RΔ*tal18H* + dTAL18H-MTLA	*tal18H* deletion mutant carrying dTAL18H-MTLA in pSKX1 vector; rifamycin and gentamicin resistant	This study
A. tumefaciens		
GV3101	WT strain; rifampicin resistant	Van Larebeke *et al.*, 1974
GV3101(*1HY-LTPE*)	GV3101 derivative containing pSKA2-*1HY-LTPE*	This study
GV3101(*2HY-LTPE*)	GV3101 derivative containing pSKA2-*2HY-LTPE*	This study
GV3101(*3HY-LTPE*)	GV3101 derivative containing pSKA2-*3HY-LTPE*	This study
GV3101(*4HY-LTPE*)	GV3101 derivative containing pSKA2-*4HY-LTPE*	This study
GV3101(*2HYv2-LTPE*)	GV3101 derivative containing pSKA2-*2v2HY-LTPE*	This study
GV3101(*2HYv3-LTPE*)	GV3101 derivative containing pSKA2-*2v3HY-LTPE*	This study
GV3101(*1HY-MTLA*)	GV3101 derivative containing pSKA2-*1HY-MTLA*	This study
GV3101(*2HYv2-MTLA*)	GV3101 derivative containing pSKA2-*2v2HY-MTLA*	This study
GV3101(*2HYv3-MTLA*)	GV3101 derivative containing pSKA2-*2v3HY-MTLA*	This study
GV3101(*GUS-2A*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-2A*	Streubel *et al.*, 2012
GV3101(*GUS-2T*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-2T*	Streubel *et al.*, 2012
GV3101(*GUS-2G*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-2G*	Streubel *et al.*, 2012
GV3101(*GUS-2C*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-2C*	Streubel *et al.*, 2012
GV3101(*GUS-3A*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-3A*	Streubel *et al.*, 2012
GV3101(*GUS-3T*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-3T*	Streubel *et al.*, 2012
GV3101(*GUS-3G*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-3G*	Streubel *et al.*, 2012
GV3101(*GUS-3C*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-3C*	Streubel *et al.*, 2012
GV3101(*GUS-4A*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-4A*	Streubel *et al.*, 2012
GV3101(*GUS-4T*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-4T*	Streubel *et al.*, 2012

GV3101(*GUS-4G*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-4G*	Streubel *et al.*, 2012
GV3101(*GUS-4C*)	GV3101 derivative containing pGWB3-*GUS-4C*	Streubel *et al.*, 2012
Plasmids		
pUC57-HD1 to HD6	Vectors containing repeat with HD RVD at 6 positions; carbenicillin resistant	Boch *et al.*, 2009
pUC57-NI1 to NI6	Vectors containing repeat with HD RVD at 6 positions; carbenicillin resistant	Boch *et al.*, 2009
pUC57-NG1 to NG6	Vectors containing repeat with NG RVD at 6 positions; carbenicillin resistant	Boch *et al.*, 2009
pUC57-NS1 to NS6	Vectors containing repeat with NS RVD at 6 positions; carbenicillin resistant	Boch *et al.*, 2009
pUC57-HY1 to HY6	Vectors containing repeat with HY RVD at 6 positions; carbenicillin resistant	This study
pUC57-HY2- and HY6-MTLA	Vectors containing repeat with HY RVD and MTLA motif at positions n°2 and n°6; carbenicillin resistant	This study
pSKA2	ENTRY vector containing a Hax3 backbone; spectinomycin resistant	Boch *et al.*, 2009
pGWB3	Vector containing a GUS gene; kanamycin resistant	Nakagawa *et al.*, 2007
pSKX1	Golden Gate-compatible pBBR1MCS-5 derivative, gentamicin	Streubel *et al.*, 2013

Table S2. Primers used in this study.

Primer name	Sequence	Product size	Interest
rep-allele-links rep_mut_HY_rechts	ATGGCCACCACCTGCTCCGG CGCCAGCCACTATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGA	3,000 bp	Production of HY repeat.
MTLA2for MTLA2rev	TTGAAGACTTATGACCCTGGCGCAGGTGGTGGCCATCGCC AGGGCCCGTCGACTGCAGAG	3,000 bp	Production of HY repeat at position 2 with an MTLA motif.
MTLA6for MTLA6rev	CTTCCATGGCATGACCCTGGCGCAGGTGGTGGCCATCGCC TCTTCAAAGGGCCCGTCGAC	3,000 bp	Production of HY repeat at position 6 with an MTLA motif.
mutsite1_MTLA_for mutsite1_MTLA_rev	GGCCCATGGCATGAAAGTCTTCAAAGGGAT TGGCACAGCACCGGCAACAG	3,000 bp	Production of dTALE repeats at position 1, compatible with MTLA2.
MTLA_Rep1_F MTLA_Rep1_R	TTTGAAGACTTTGACCCTGGCGCAGGTGGTGGCCATCGC TTTGAAGACTTTCAGGCCATGGGCCTGGCACAGCACCG	100 bp	Production of NG repeat at position 1 with an MTLA motif.
MTLA_CR_F MTLA_CR_R	ATGACAAGTCTTCCTTGTCTGTAAGCGGA ATGACAAGTCTTCCTTGTCTGTAAGCGGA	3,000 bp	Production of assembly vector compatible with repeat at position n°1 with a MTLA motif.
300seq695F Pseq2843R	TGGTCCGGCGCACGCGCTCTGGAG AACCACTTGCGCGTGGTCGGCAAC	~ 2,000 bp	Validation of dTAL18H sequences by SANGER sequencing.
EBE_primer_F Bs4_GG_R_AKR	TTTGGTCTCACACCTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTTCTTTC TTGTATATAACTTTGTCC TTTGGTCTCACCTTAGATTCGATTAAAAATAAATTGTATG	115 pb	Production of the *GUS* reporter with variable EBE.

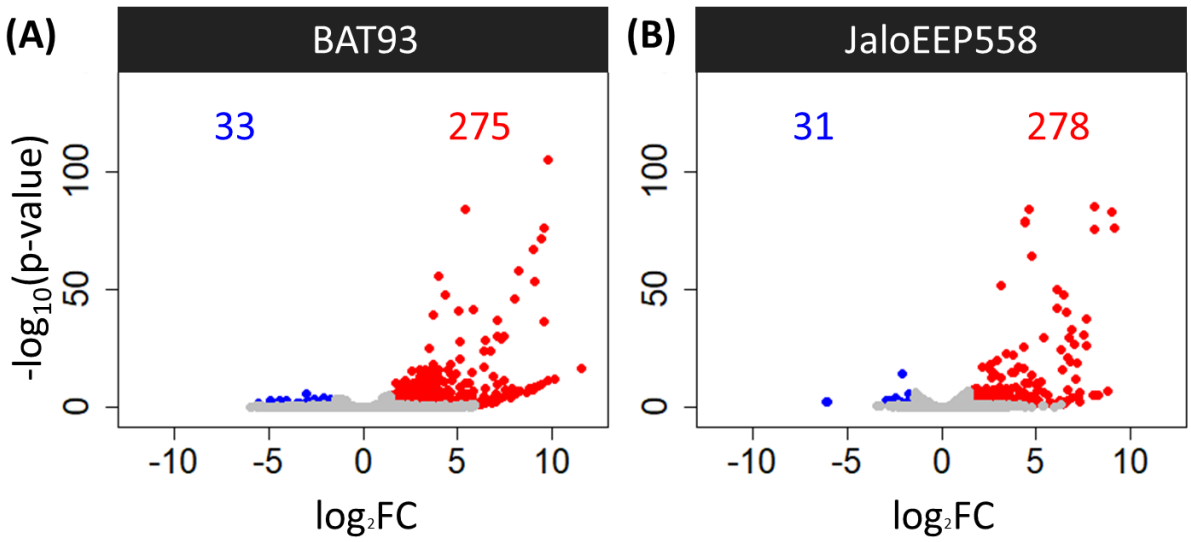


Figure 1. Impact de TAL18H sur le transcriptome de BAT93 (A) et JaloEEP558 (B). L'analyse d'expression différentielle a été réalisée par DESeq2 (Love *et al.*, 2014) en comparant le transcriptome des plantes inoculées avec la souche mutante 6546RΔ*tal18H* au transcriptome des plantes inoculées avec la souche sauvage 6546R. Les GDE sont définis avec un $\log_2$FC > |1,5| et une *p*-value corrigée < 0,05 (Benjamini and Hochberg, 1995). Le nombre de gènes induits ou réprimés est indiqué respectivement en rouge et en bleu.

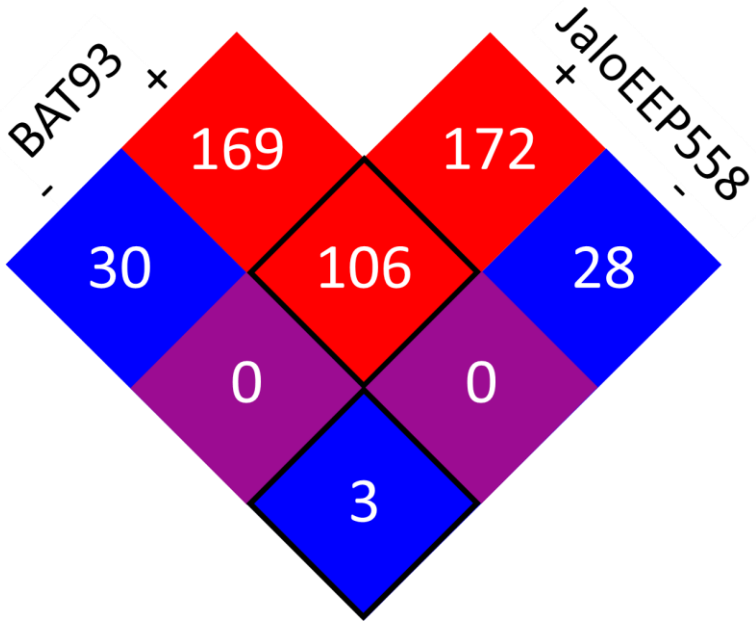


Figure 2. Diagramme de Venn des GDE chez BAT93 et JaloEEP558. Les gènes induits et réprimés sont affichés respectivement en rouge et en bleu. Le transcriptome commun encadré en noir représente les gènes induits ou réprimés chez les deux génotypes, tandis que les transcriptomes spécifiques de BAT93 et JaloEEP558 sont représentés par les gènes induits ou réprimés spécifiquement chez BAT93 et JaloEEP558.

3. Résultats complémentaires

3.1. Impact de TAL18H sur le transcriptome de BAT93 et JaloEEP558

Pour pouvoir étudier le rôle de TAL18H dans la graisse commune du haricot et affiner la recherche de cibles potentielles, les transcriptomes de BAT93 et JaloEEP558 ont été séquencés 48 heures après inoculation de 6546R ou 6546RΔ*tal18H* (RNA-Seq). BAT93 est résistant à *Xpp* alors que JaloEEP558 est sensible à *Xpp* (Foucher *et al.*, 2020). Des analyses d'expression différentielle entre les conditions inoculées par 6546R et 6546RΔ*tal18H* dans chaque génotype ont permis de mettre en évidence l'influence de TAL18H sur le transcriptome du haricot en contexte de résistance ou de sensibilité.

Tout d'abord, TAL18H semble avoir un impact similaire sur le transcriptome des deux génotypes de haricots, car on retrouve un peu plus de 300 gènes différentiellement exprimés (GDE) en présence de TAL18H dans chacun des deux génotypes (Figure 1). Dans chaque génotype plus de 88 % de ces GDE sont induits sous l'influence de TAL18H.

Ensuite, j'ai défini différents groupes de gènes en fonction de leur profil d'expression : (*i*) le transcriptome commun correspondant aux gènes induits ou réprimés simultanément dans les deux génotypes, (*ii*) le transcriptome spécifique de BAT93 et (*iii*) le transcriptome spécifique de JaloEEP558 correspondants aux gènes induits ou réprimés spécifiquement chez BAT93 ou JaloEEP558 respectivement (Figure 2). Des tests d'enrichissement ont été réalisés sur ces trois listes de gènes, et ont permis de mettre en évidence les fonctions les plus représentées dans chaque transcriptome (Tableau 1).

De façon intéressante, le métabolisme des glucides (carbohydrate metabolism) est enrichi dans le transcriptome commun de BAT93 et JaloEEP558, avec 7 GDE présentant un $\log_2$FC moyen de 4,56. Ce métabolisme est également enrichi et induit dans le transcriptome spécifique de JaloEEP558 (Cellular carbohydrate metabolism et carbohydrate metabolism) mais n'est pas retrouvé dans le transcriptome spécifique de BAT93. Ces résultats suggèrent que TAL18H induit des gènes impliqués dans le métabolisme des glucides à la fois chez BAT93 et JaloEEP558, et que ce métabolisme est induit plus fortement chez le génotype sensible JaloEEP558 que chez le génotype résistant, BAT93.

Par ailleurs, le transport de cations et d'ions sont les fonctions les plus enrichies dans le transcriptome spécifique de BAT93. Face à ce résultat, plusieurs hypothèses peuvent être émises. BAT93 étant résistant à *Xpp*, il est possible que l'induction du transport d'ions et de cations soit lié à la mise en place d'une résistance en présence de TAL18H. Il est aussi possible que TAL18H induit des cibles différentes dans le génome de BAT93 et de JaloEEP558, conduisant à l'induction du transport d'ions et de cations uniquement chez BAT93.

Tableau 1. Fonctions enrichies en présence de TAL18H. L'annotation GO (Gene Ontology) des gènes a été faite selon Foucher *et al.* (2020). Le test d'enrichissement a été réalisé par AgriGO v2.0 à l'aide d'une analyse SEA (Singular Enrichment Analysis) avec le test statistique de Fischer et un minimum de 5 gènes par terme GO (Tian *et al.*, 2017), suivi d'un regroupement des GO redondants par REVIGO (Supek *et al.*, 2011). Le transcriptome commun comporte les gènes induits ou réprimés dans les deux génotypes, tandis que les transcriptomes spécifiques correspondent aux gènes induits ou réprimés spécifiquement dans l'un des deux génotypes.

Terme GO enrichi	Description	Nombre de GDE	log_2FC moyen	*p*-value
Transcriptome commun				
GO:0005975	Carbohydrate metabolism	7	4,56	1,80E-02
GO:0065007	Biological regulation	11	3,62	4,60E-02
Transcriptome spécifique de JaloEEP558				
GO:0044262	Cellular carbohydrate metabolism	8	1,47	8,40E-03
GO:0006355	Regulation of transcription, DNA-dependent	17	1,63	9,60E-03
GO:0019222	Regulation of metabolism	17	1,63	1,40E-02
GO:0005975	Carbohydrate metabolism	12	2,12	1,60E-02
GO:0006811	Ion transport	6	1,82	4,90E-02
Transcriptome spécifique de BAT93				
GO:0006812	Cation transport	9	3,65	6,90E-04
GO:0006811	Ion transport	9	3,65	2,00E-03
GO:0065007	Biological regulation	25	2,79	4,90E-03
GO:0006355	Regulation of transcription, DNA-dependent	18	2,20	7,40E-03
GO:0050794	Regulation of cellular process	23	2,82	9,40E-03
GO:0050789	Regulation of biological process	23	2,82	1,10E-02
GO:0019222	Regulation of metabolic process	18	2,20	1,10E-02
GO:0009058	Biosynthetic process	32	2,42	1,20E-02
GO:0044249	Cellular biosynthetic process	29	2,57	1,90E-02
GO:0006807	Nitrogen compound metabolism	27	2,09	1,90E-02
GO:0016070	RNA metabolic process	20	1,92	2,00E-02
GO:0006139	Nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism	24	2,10	2,40E-02
GO:0008152	Metabolism	75	2,86	3,50E-02

3.2. Recherche de la cible de TAL18H

Les données RNA-Seq présentées précédemment ont été comparées à des résultats de prédictions de cibles faites sur les promoteurs des gènes du haricot par les logiciels TALVEZ, Targeter 2.0 ou TALgetter (Doyle *et al.*, 2012; Grau *et al.*, 2013; Pérez-Quintero *et al.*, 2013). Ces analyses ont permis de mettre en évidence quatre gènes prédits et induits chez BAT93 et JaloEEP558 (Tableau 2). La cible la plus induite correspond au gène de la NAD(P)H déshydrogénase 18 (*PvNDH18*), tandis que la cible la mieux prédite code la early-noduline like 18 (*PvENODL18*). TAL18H pourrait aussi cibler un gène codant le régulateur de réponse 9 (*PvARR9*), ou bien un gène codant une pectine lyase like (*PvPLL*). La capacité de fixation de TAL18H sur les EBE de *PvNDH18* et *PvPLL* a été testée lors d'expériences de fusion promoteur GUS durant la thèse de Mylène Ruh. Les résultats ont alors montré que TAL18H est capable de s'accrocher sur l'EBE de *PvNDH18*, mais est incapable de fixer l'EBE de *PvPLL* (Ruh, 2017). Le gène *PvNDH18* présente la particularité de porter trois EBE répétées situées à environ 1 800 pb de l'ATG (Figure 3). De telles caractéristiques n'ont jamais été décrites pour une cible d'effecteur TAL.

Les prédictions de cibles de TAL18H ont aussi été faites sur le génome complet du haricot. Ces analyses ont mis en évidence une EBE dans une zone intergénique sur le chromosome 9 du haricot. Cette EBE fait partie des trois meilleures EBE prédites par les logiciels TALVEZ et Targeter 2.0. Les données RNA-Seq ont montré que la région en aval de l'EBE était fortement induite en présence de TAL18H chez BAT93 et JaloEEP558 (Figure 4). Cette induction a été confirmée par RT-qPCR dans les deux génotypes, et un transcrit intergénique de 582 pb a été identifié et nommé *TALIR* (TALE-induced intergenic region). Enfin, lors de la thèse de Mylène Ruh, des expériences de fusion promoteur GUS ont montré que TAL18H était capable de s'accrocher sur l'EBE de *TALIR* ainsi que dans la région promotrice de *TALIR* de BAT93 et de JaloEEP558 et d'induire la transcription en aval de son site d'accroche (Ruh, 2017). Jusqu'à lors, aucune étude n'a décrit l'induction d'une cible intergénique par un effecteur TAL.

Ces premiers résultats ont permis de confirmer que *PvNDH18* et *TALIR* étaient induits par TAL18H *in planta*. Pour valider l'implication de ces cibles dans le gain d'agressivité liée à TAL18H, nous avons construit des dTALE capables de cibler les promoteurs de *PvNDH18* et *TALIR* chez JaloEEP558, puis nous avons testé la capacité de ces dTALE à induire ces gènes et restaurer l'agressivité de la souche 6546RΔ*tal18H*. Ainsi, si plusieurs TALE ciblant différentes EBE dans le promoteur du gène cible parviennent à induire le gène cible tout en restaurant l'agressivité de la souche mutante, alors nous pourrons confirmer que l'induction de ce gène cible est responsable du gain d'agressivité lié à TAL18H. Trois dTALE ont été construits pour *PvNDH18* (*dTALE-NDH18a, b* et *c*). dTALE-NDH18a porte une séquence de RVD parfaite pour cibler les EBE naturelles de TAL18H, tandis que dTALE-NDH18b et c ciblent des EBE différentes de celles de TAL18H situées à 444 pb de l'ATG et à 1 675 pb de l'ATG (Figure 3). Avec ces dTALE, nous souhaitions évaluer l'influence des EBE répétées sur l'induction du gène et l'agressivité de *Xpp*. Dans le cas de *TALIR*, nous avons construit trois dTALE (*dTALE-TALIRa, b* et *c*) ciblant trois EBE en dehors des EBE naturelles de TAL18H (Figure 5).

Tableau 2. Listes des cibles potentielles de TAL18H. Les cibles ont été prédites à partir d'un protéome de G19833 représenté par les 3 kb en amont du début de la transcription de chaque gène. Le rang de log_2FC représente la moyenne des rangs chez BAT93 et JaloEEP558.

Gène	Description	log_2FC		Distance EBE-ATG (pb)	Rang			
		Jalo EEP558	BAT93		TALVEZ	Targeter 2.0	TAL getter	Log_2FC
Phvul.008G074200	early nodulin-like protein 18	1,37	1,37	2216	14	12	25	371,5
Phvul.007G280100	NAD(P)H dehydrogenase 18	8,09	5,12	1941,5	142	117	17	59
Phvul.007G236800	Pectin lyase-like superfamily protein	6,79	5,06	2918	-	221	182	69,5
Phvul.001G125800	response regulator 9	6,08	5,36	1106	-	41	190	72,5

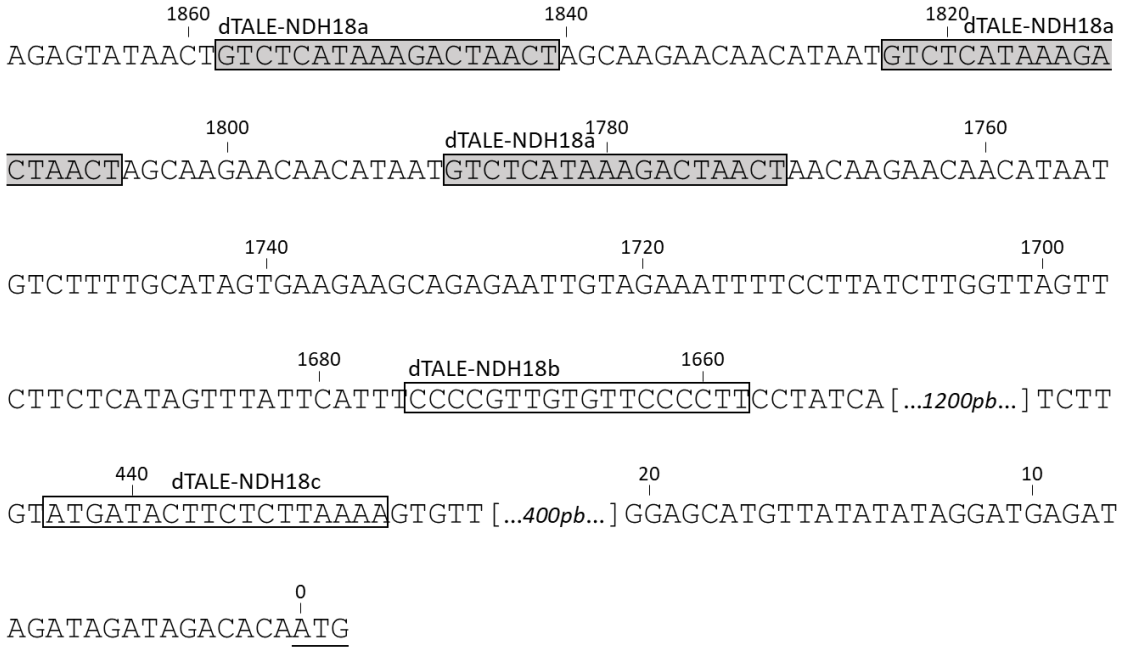


Figure 3. Localisation des EBE de TAL18H et des dTALE-NDH18 dans le promoteur de *PvNDH18*. Les trois EBE répétées de TAL18H sont indiquées en grisé et les EBE des dTALE-NDH18a, b et c sont encadrées. Les dTALE ont été construits comme décrit dans l'article du chapitre 3. La numérotation des bases commence à partir de l'ATG souligné et deux zones de 400 pb et 1 200 pb ont été résumées entre crochets.

Les deux tests de pouvoir pathogène menés sur JaloEEP558 ont montré que *PvNDH18* et *TALIR* ne sont pas les cibles responsables de l'augmentation des symptômes ou de l'augmentation de la population bactérienne (Figure 6). Les résultats de RT-qPCR montrent que les dTALE-TALIR et -NDH18 induisent leur cible à un niveau similaire à TAL18H (Figure 6C). Cependant, les souches mutantes complémentées par ces dTALE n'engendrent pas plus de symptômes que la souche mutante complémentée avec le vecteur vide (Figure 6A). De la même manière, ces dTALE ne permettent pas de restaurer une population bactérienne supérieure à celle engendrée par la souche 6546RΔ*tal18H* + ev 14 jours après inoculation (Figure 6B). De façon étonnante, les souches mutantes complémentées avec *dTALE-NDH18a* et *b* engendrent significativement moins de symptômes que la souche 6546RΔ*tal18H* + ev. Ce résultat pourrait indiquer que l'induction de *PvNDH18* engendre de la résistance.

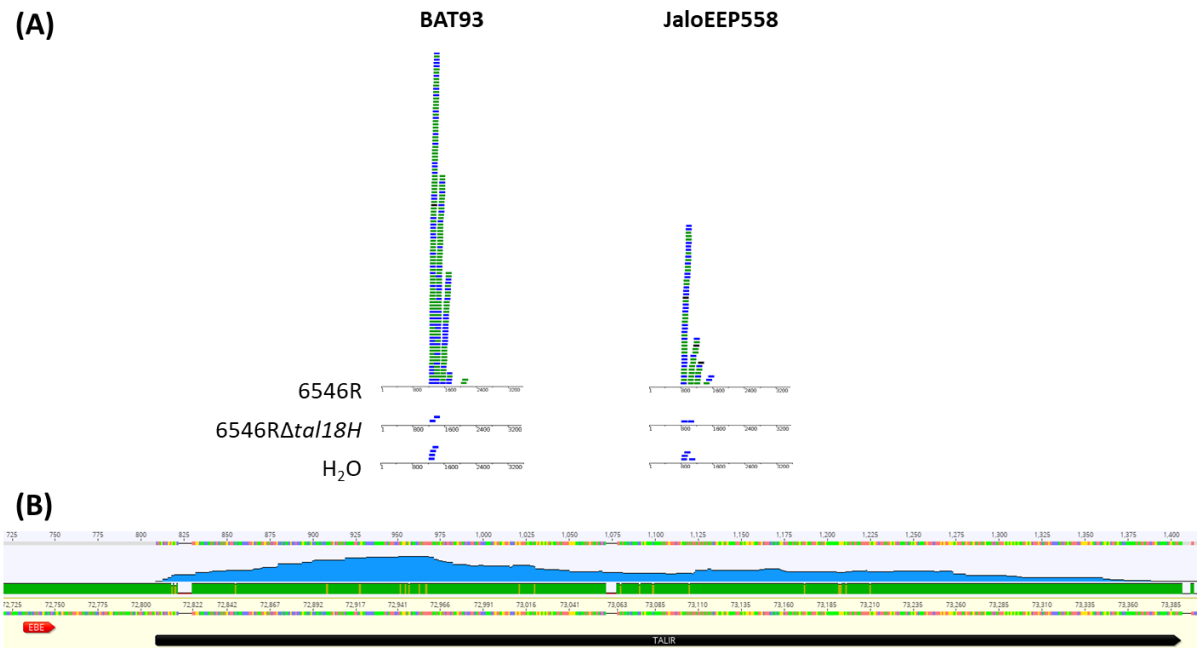


Figure 4. Cartographie de la région *TALIR*. Localisation des séquences obtenues en RNA-Seq sur la région *TALIR* de JaloEEP558 et BAT93 inoculés par 6546R, 6546RΔ*tal18H* ou de l'eau (H_2O) (**A**). Visualisation de la région *TALIR* induite en noire, et de l'EBE de TAL18H en rouge (**B**). La séquence représentée correspond à la séquence consensus de *TALIR* chez BAT93 et JaloEEP558, tandis que l'histogramme bleu représente la couverture des séquences du RNA-Seq chez JaloEEP558 inoculé par 6546R.

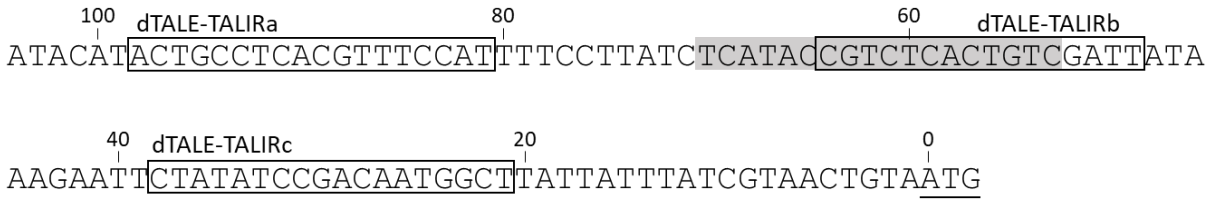


Figure 5. Localisation de l'EBE de TAL18H et des dTALE-TALIR dans la région promotrice du transcrit *TALIR*. L'EBE de TAL18H est indiquée en grisé, les EBE des dTALE-TALIRa, b et c sont encadrées. Les dTALE ont été construits comme décrit dans l'article du chapitre 3. La numérotation des bases commence à partir de l'ATG souligné.

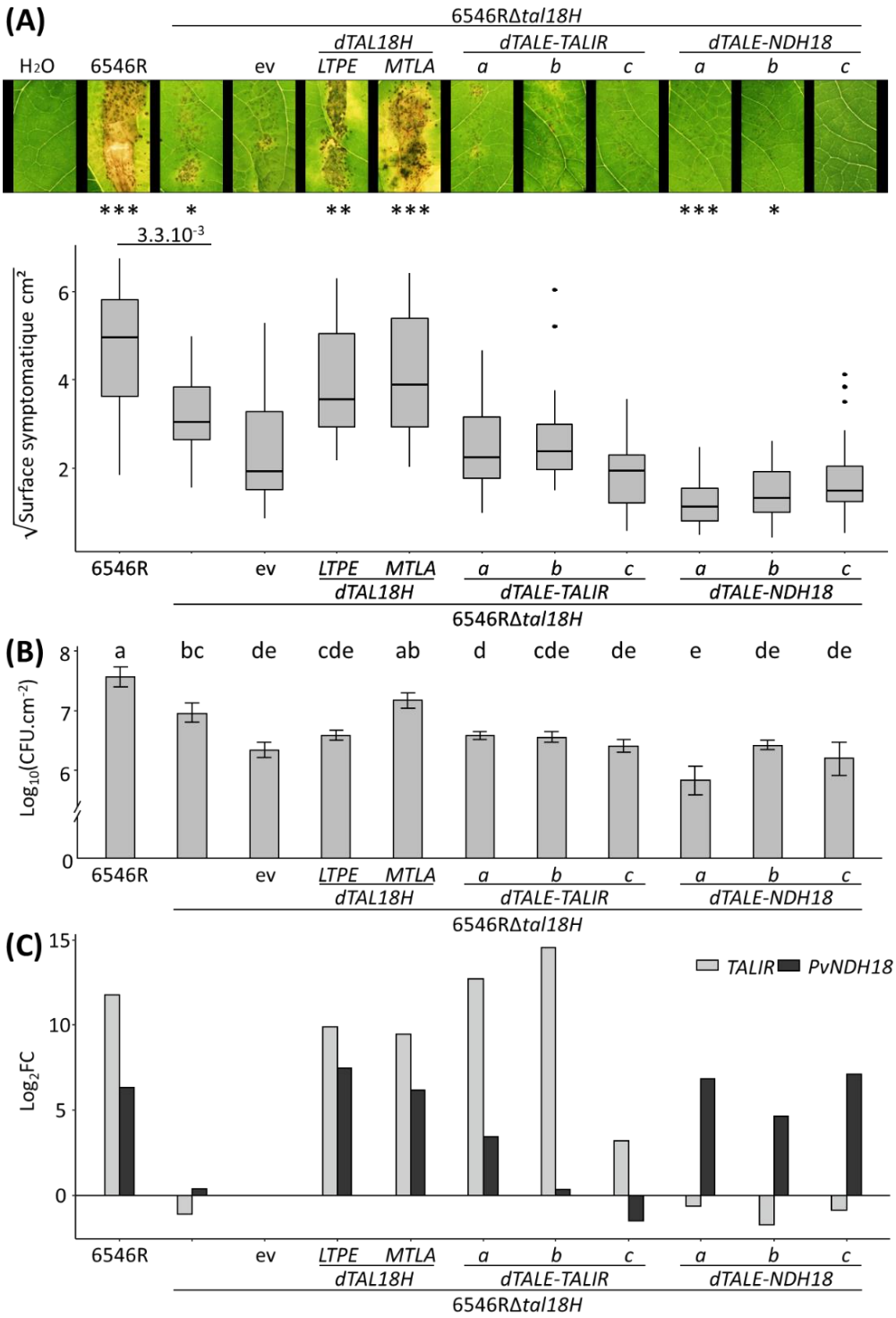


Figure 6. Evaluation du rôle de *TALIR* et *PvNDH18* comme cible de TAL18H. Evaluation des symptômes (**A**) et de la population bactérienne retrouvée sur JaloEEP558 14 jours après inoculation de 6546R, 6546RΔ*tal18H*, 6546RΔ*tal18H* complémentée avec le vecteur vide (ev), avec *dTAL18H-LTPE* ou -*MTLA* ou avec différents *dTALE-NDH18* ou -*TALIR* (*a*, *b* ou *c*) (**B**). Les premières feuilles de JaloEEP558 ont été inoculées par frottis et les symptômes ont été évalués lors de deux essais indépendants (n = 20) par le logiciel ilastik comme décrit dans l'article du chapitre 2. Les populations bactériennes ont été évaluées comme décrit dans l'article de ce chapitre. Les histogrammes représentent la moyenne des réplicas biologiques (n = 5) tandis que les barres d'erreurs indiquent l'erreur standard. Un astérisque indique une différence significative par rapport à 6546RΔ*tal18H* + ev selon le test statistique de Mann & Whitney (*p*-value < 0,05). Evaluation de la capacité d'induction de *TALIR* et de *PvNDH18* par les différents dTALE (**C**). L'induction de *TALIR* et *PvNDH18* a été évaluée par RT-qPCR 48 h après inoculation sur JaloEEP558 selon le protocole décrit par Foucher *et al.*, 2020 (n = 3). La quantité d'ADNc a été normalisée par rapport à trois gènes de référence (*Act11*, *IDE* et *EF1-alpha*) qui ont donné les mêmes résultats. Seuls les résultats par rapport à *Act11* sont présentés ici et l'expression relative des gènes a été rapportée à la condition 6546RΔ*tal18H* + ev.

4. Discussion et perspectives

L'étude de TAL18H a permis (*i*) de valider l'implication de cet effecteur dans l'agressivité de 6546R, (*ii*) de mettre en évidence le rôle de motifs atypiques dans la structure de TAL18H et (*iii*) de restreindre la liste de cibles potentielles de cet effecteur TAL.

Avant cette thèse, la structure atypique de TAL18H, la spécificité d'accroche du RVD HY et l'influence du motif MTLA sur cette spécificité étaient connues (Ruh, 2017). Durant cette thèse, j'ai continué l'étude de TAL18H pour valider son implication dans l'agressivité de 6546R et montrer le rôle du motif MTLA dans la croissance bactérienne sur plante. L'article rédigé dans ce chapitre pourra être soumis à un journal dès que les résultats concernant l'impact de MTLA sur la croissance bactérienne seront répétés.

J'ai également évalué l'influence de TAL18H sur le transcriptome de BAT93 et JaloEEP558. Cette analyse a permis de mettre en évidence que sous l'influence de TAL18H de nombreux gènes liées au métabolisme des glucides sont induits dans les deux génotypes. Il pourrait donc être intéressant de mesurer l'activité enzymatique du métabolisme des sucres en présence de TAL18H.

Les données RNA-Seq ont été couplées à des prédictions de cibles afin d'obtenir une liste des cibles potentielles de TAL18H. L'accroche de TAL18H sur deux de ces cibles (*TALIR* et *PvNDH18*) a été confirmée lors d'expérience de fusion promoteur GUS, cependant nous avons montré à l'aide de tests de pouvoir pathogène avec des dTALE que ces deux cibles ne sont pas responsables du gain d'agressivité lié à TAL18H. Pour la suite, il serait donc intéressant de tester à l'aide de dTALE les autres cibles potentielles de TAL18H telles que *PvARR9* et *PvENODL18*. *PvARR9* appartient à une famille de régulateur de réponse de type A impliquée dans la répression des cytokinines et la transduction des signaux lumineux chez *A. thaliana* (D'Agostino *et al.*, 2000; Ishida *et al.*, 2008; To *et al.*, 2004). Cependant, ces fonctions ne semblent pas prédominantes dans les GDE en présence de TAL18H. *PvENODL18* en plus d'être la cible la mieux prédite, fait partie de la famille des early noduline-like qui contient aussi les gènes *SWEET* impliqués dans le transport des glucides. Ces observations penchent donc en faveur de *PvENODL18.*

Discussion générale et perspectives

L'objectif de cette thèse était de mieux comprendre l'interaction haricot-*Xanthomonas*, et notamment le rôle des effecteurs TAL dans cette interaction. Les travaux menés ont permis d'apporter des connaissances sur la réponse transcriptomique du haricot à *Xpp-Xcf*, et de mettre en évidence le rôle important de deux effecteurs TAL dans cette interaction. Ces résultats viennent enrichir les connaissances globales sur les interactions plantes-pathogènes et permettent de proposer de nouvelles pistes pour le développement de résistances à la graisse commune chez le haricot.

1. La caractérisation de l'interaction haricot-*Xanthomonas*

1.1. Le phénotypage d'une interaction complexe

Dans cette étude, nous avons mis au point une nouvelle méthode de phénotypage de *Xpp-Xcf* sur haricot permettant de discriminer l'agressivité de différentes souches et l'agressivité de souches mutantes d'ET3 par rapport à une souche sauvage (chapitre 2). Le fort pouvoir discriminant de cette méthode montre qu'elle peut être utile à la fois pour discriminer différents niveaux d'agressivité et évaluer l'impact de certains gènes de la pathogénie. De plus, elle présente l'avantage de réduire considérablement le temps de manipulation tout en miniaturisant l'essai. Avec cette méthode, le rôle de deux effecteurs TAL dans l'interaction haricot-*Xanthomonas* a pu être mis en évidence.

La particularité de cette méthode réside notamment dans l'utilisation du logiciel ilastik. Ce logiciel est assez récent (Berg *et al.*, 2019), mais il a déjà fait ses preuves dans plusieurs domaines (études biomédicales, études environnementales, détection de symptômes sur plantes…), ce qui montre sa grande capacité d'adaptation (Ilett *et al.*, 2020; Ojeda-Martinez *et al.*, 2020; Pike *et al.*, 2020; Rashid *et al.*, 2019). Ce logiciel est basé sur un système d'intelligence artificielle de type machine learning, une technologie qui est actuellement en plein essor pour le phénotypage de symptômes sur plantes (Singh *et al.*, 2020). Dans cette thèse, le logiciel ilastik a d'abord été entrainé à reconnaitre les symptômes de *Xpp-Xcf* sur JaloEEP558 à l'aide de photos de symptômes, ce qui a permis de générer un entrainement spécifique au pathosystème haricot-*Xanthomonas*. A l'aide d'un seul entrainement, nous avons pu discriminer différentes souches de *Xpp-Xcf* (Figure 4 du chapitre 3) ainsi que des souches mutantes de *tal* et complémentées (chapitres 3 et 4).

Cependant, cette méthode n'a été testée que sur le génotype JaloEEP558 et il a été montré que certaines souches n'ont pas la même agressivité sur tous les génotypes de haricots (Duncan *et al.*, 2011). En ce sens, nous avons montré que la souche 6546R était plus agressive que la souche 6165R sur JaloEEP558 (chapitre 2), or ces souches présentent le même niveau d'agressivité sur le génotype Flavert d'après analyse visuelle de feuilles inoculées par trempage (Ruh *et al.*, 2017). Il serait donc intéressant de tester cette méthode sur d'autres génotypes de haricot. Ceci permettrait à la fois d'évaluer le pouvoir discriminant de cette méthode sur différents génotypes et d'analyser les différences d'agressivité de différentes souches. Par ailleurs, l'intensité des

symptômes peut aussi être variable entre les différents organes (Arnaud-Santana *et al.*, 1994). Il pourrait donc être intéressant de développer des méthodes de phénotypage par machine learning sur gousses par exemple. Le déploiement de cette méthode d'évaluation des symptômes sur divers génotypes de haricot avec différentes souches et sur divers organes permettrait de mieux caractériser le pathosystème haricot-*Xanthomonas*.

A plus large échelle, il serait intéressant de tester l'apprentissage que nous avons réalisé sur d'autres pathosystèmes comme par exemple le pathosystème haricot-*Pseudomonas* qui engendre des symptômes similaires à la graisse commune du haricot (Zaumeyer and Thomas, 1957). En effet, ce type d'apprentissage peut prendre plusieurs semaines et il serait tentant d'améliorer l'apprentissage existant afin d'obtenir une méthode de quantification des symptômes la plus générique possible.

Par ailleurs, lors d'une évaluation visuelle des symptômes, l'appréciation du niveau de résistance due à un QRL peut être variable en fonction de l'évaluateur et de l'échelle utilisée (Poland and Nelson, 2010). Cette observation montre l'intérêt d'utiliser des méthodes objectives et automatisées pour évaluer les résistances, notamment dans le cas de résistances quantitatives comme c'est le cas dans le pathosystème haricot-*Xanthomonas*.

1.2. La coévolution entre le haricot et *Xanthomonas*

Dans la figure 4 de l'article présenté en chapitre 3 nous avons montré qu'il existait au moins deux niveaux d'agressivité chez les souches *Xpp-Xcf*. Plusieurs études ont montré que les souches de la lignée génétique fuscans pouvaient être plus agressives que les souches des autres lignées (Mutlu *et al.*, 2008; Opio *et al.*, 1996). Les résultats de cette thèse montrent que cette observation ne peut être généralisée, car certaines souches des lignées génétiques non fuscans sont tout aussi, voire plus agressives que les souches fuscans. Cette observation avait également été faite par Duncan *et al.* (2011). Par ailleurs, il est communément admis que les génotypes andins seraient plus sensibles à *Xpp-Xcf* que les génotypes mésoaméricains (Singh and Miklas, 2015; Tugume *et al.*, 2018). Les observations faites pendant cette thèse et par Nodari *et al.* (1993) vont dans ce sens, car BAT93 (résistant) est d'origine mésoaméricaine tandis que JaloEEP558 (sensible) est d'origine andine. Le fait que les génotypes mésoaméricains portent des résistances à *Xpp-Xcf* suggère qu'une coévolution aurait pu avoir lieu entre les *Xanthomonas* et les génotypes mésoaméricains, aboutissant au développement de résistance chez ces génotypes. L'absence de résistance dans les génotypes andins au contraire, suggère que les souches seraient apparues récemment sur ces génotypes. Ces observations suggèrent donc une hypothèse selon laquelle les *Xanthomonas* capables d'attaquer le haricot seraient apparues dans les régions mésoaméricaines, puis auraient été introduites dans les régions andines plus récemment. Sachant que la principale voie de dissémination de *Xpp-Xcf* est la semence contaminée, l'introduction de ces bactéries en région andine pourrait avoir eu lieu lors d'échange de semences (Schuster and Coyne, 1974; Tebaldi *et al.*, 2010). Cette hypothèse est supportée par le fait que le haricot est d'origine mésoaméricaine et serait apparu il y a environ 4 millions d'années (Delgado-Salinas *et al.*, 2006), alors que le centre de diversité andin aurait divergé il y a seulement 160 000 ans (Schmutz *et al.*, 2014).

Plus récemment, la domestication du haricot par l'homme et l'introgression de résistances provenant d'autres espèces de *Phaseolus* a également pu influencer la coévolution entre le haricot et les *Xanthomonas*. De plus, divers génotypes de haricot (mésoaméricain et andin) ont été introduits récemment en Europe, et ont pu se croiser de par l'absence de barrières géographiques et le développement de la sélection. Ces génotypes au fond génétiques mixtes peuvent donc porter des QRL d'origine mésoaméricains associés à des fonds génétiques andins. Sachant que les QRL ont une expression variable en fonction du fond génétique, diverses intensités de résistance sont aujourd'hui visibles (Tugume *et al.*, 2018). La dissémination de *Xpp-Xcf* à travers les échanges de semences associée aux nombreux croisements des deux pools géniques complique donc les analyses de coévolution. Une meilleure connaissance de la diversité de *Xpp-Xcf* dans les zones de diversification du haricot, comme le Mexique, les andes et l'Europe, permettrait de mieux comprendre l'histoire évolutive de ces agents pathogènes en lien avec l'histoire évolutive de leur hôte à différentes échelles de temps, pour éclairer les stratégies d'amélioration.

1.3. Les réponses transcriptomiques du haricot à *Xanthomonas*

Pour comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents à une interaction plante-pathogène, différentes études peuvent être menées. Dans le cadre de ce projet de thèse, nous avons fait le choix de mener une étude transcriptomique sur l'interaction haricot-*Xanthomonas* (chapitre 1). Cette étude a permis de comprendre l'impact de *Xanthomonas* sur le transcriptome du haricot, tout en mettant en avant le rôle potentiel des effecteurs TAL dans cette interaction. Jusqu'à lors, ce genre d'étude n'avait jamais été menée sur ce pathosystème. Notre étude a donc permis d'apporter des réponses quant aux voies métaboliques importantes pour la sensibilité et la résistance du haricot à *Xpp*. De façon intéressante, la sensibilité de JaloEEP558 à *Xpp* est liée à une induction de la voie de l'éthylène, une répression de gènes NLR et une modification de l'expression de gènes liés à la paroi, tandis que la résistance de BAT93 serait due à l'induction de la voie du SA et à la répression de la photosynthèse.

L'induction de la voie du SA chez le génotype résistant n'est pas surprenante, car le SA est connu depuis bien longtemps comme étant une hormone majeure de la résistance aux bioagresseurs chez les plantes, et qu'il participe à la résistance contre *Xanthomonas* chez d'autres plantes comme le riz, les agrumes ou encore le coton (Chiesa *et al.*, 2019; Jiang *et al.*, 2020; Le Thanh *et al.*, 2017; Martinez *et al.*, 2000; Wang and Liu, 2012). Plusieurs études ont d'ailleurs montré que l'application exogène de SA pouvait augmenter la résistance à *Xanthomonas* chez le riz et les agrumes (Le Thanh *et al.*, 2017; Wang and Liu, 2012). Il serait donc intéressant de tester l'application du SA sur le génotype sensible JaloEEP558 afin de voir si elle engendre une augmentation de la résistance à *Xpp-Xcf*. Si les résultats sont probants, des analogues du SA déjà commercialisés comme produits de biocontrôle (tels que le BION®) pourraient alors être utilisés pour lutter contre la graisse commune du haricot. Il a d'ailleurs été montré que l'application de ce produit sur tomate permettait de lutter contre la tache bactérienne due à *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Louws *et al.*, 2001). D'autre part, l'induction de la voie de l'éthylène chez le génotype sensible a aussi été observée dans d'autres espèces végétales sensibles à *Xanthomonas*

(Ben-David *et al.*, 1986; Dutta *et al.*, 1991; Lund *et al.*, 1998). De la même manière, il pourrait être intéressant d'appliquer de l'éthylène sur BAT93 et JaloEEP558 durant leur interaction avec *Xpp,* afin de voir si la sensibilité augmente chez JaloEEP558, et si la résistance de BAT93 est abolie.

La résistance observée chez BAT93 est également liée à une répression des gènes de la photosynthèse et du métabolisme primaire. Plusieurs études ont déjà montré que la répression de la photosynthèse était une réponse classique de l'interaction incompatible (Berger *et al.*, 2007; Bilgin *et al.*, 2010; Gervasi *et al.*, 2018; Socquet-Juglard *et al.*, 2013). Deux études ont montré que la répression de la photosynthèse pourrait être médiée par une voie MAPK, ce qui conduirait à une importante production de ROS impliquées dans l'initiation de la HR (Liu *et al.*, 2007; Su *et al.*, 2018). Un processus similaire pourrait se dérouler chez BAT93. Il serait alors intéressant de mesurer la quantité de ROS produites par BAT93 et JaloEEP558 durant l'interaction. De la même manière, nous pourrions essayer de bloquer la photosynthèse à l'aide de DCMU ou DBMIB chez JaloEEP558 afin de voir si la résistance de ce génotype est augmentée (Trebst, 2007). Par ailleurs, il a été montré que *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* possède des peptides natriurétiques similaires à des protéines végétales (PNP : Plant-like Natriuretic Peptide), capables de bloquer la répression de la photosynthèse chez les agrumes, ce qui favorise l'infection (Garavaglia *et al.*, 2010). Cette étude et nos résultats soulignent que la répression de la photosynthèse jouerait bien un rôle important dans la résistance aux *Xanthomonas.* Il serait donc intéressant de rechercher si des protéines similaires aux PNP sont présentes et induites lors de l'infection chez *Xpp-Xcf*.

De plus, la répression du métabolisme primaire chez BAT93 suggère qu'il pourrait restreindre sa production de glucides. Or ces composés sont une source importante de nutriments pour le développement de *Xanthomonas* et donc de la maladie (Chen *et al.*, 2010). Ainsi, la répression de ce métabolisme pourrait limiter les nutriments disponibles pour les *Xanthomonas.* Il serait donc intéressant de mesurer les glucides présents et l'activité d'enzymes clés dans la production des glucides dans les zones infectées par les bactéries.

L'étude transcriptomique que nous avons menée a mis en évidence des voies de sensibilité et de résistance à *Xpp* chez BAT93 et JaloEEP558 lors d'une infection foliaire. Cependant, il serait intéressant de voir si ces voies sont aussi induites ou réprimées lorsque la bactérie attaque d'autre organes tels que les gousses ou les graines, ou bien dans d'autres génotypes résistants et sensibles. Egalement, il serait intéressant d'évaluer si le haricot réagit de la même manière à *Xpp* et *Xcf* afin de savoir si la réponse de défense est spécifique d'un pathovar. Assez peu d'études transcriptomiques ont été menées dans le cadre d'interactions entre le haricot et des agents pathogènes. Il serait intéressant d'évaluer si les réponses transcriptomiques que nous avons mis en évidence sont aussi présentes face à d'autres agents pathogènes.

1.4. Le rôle des effecteurs TAL dans l'interaction haricot-*Xanthomonas*

Les souches de *Xpp-Xcf* que nous avons étudiées contiennent peu d'effecteurs TAL, et deux de ces effecteurs (*Xfutal1* et *Xfutal2*) sont partagés par des souches appartenant à des lignées génétiques phylogénétiquement éloignées (Ruh *et al.*, 2017). Précédemment à cette thèse, il avait été fait l'hypothèse que ce faible nombre d'effecteurs TAL et leur conservation au sein de différentes lignées génétiques pourrait vouloir dire qu'ils joueraient un rôle important dans l'interaction avec le haricot (Ruh *et al.*, 2017). Nous avons pu valider cette hypothèse en montrant que *Xfutal1* et *Xfutal2* augmentent l'agressivité des *Xpp-Xcf*. Deux autres effecteurs TAL, *Xfutal3* et *Xfutal4* ont aussi été identifiés dans ces agents pathogènes et sont en cours d'étude. Ces deux effecteurs sont présents uniquement dans la lignée NF2, ils correspondraient donc à une adaptation spécifique de cette lignée. De façon intéressante, ces effecteurs sont retrouvés systématiquement ensemble dans les souches NF2, ce qui suggère qu'ils pourraient avoir une action synergique.

D'autres *Xanthomonas*, comme *Xoo*, possèdent beaucoup plus d'effecteurs TAL par souche (entre 7 et 20) que *Xpp-Xcf* (entre 1 et 3). Schandry *et al.* (2018) ont alors proposé que la diversification du répertoire d'effecteurs TAL des *Xoo* pourrait être due à un développement intensif de résistances à *Xoo* chez le riz, notamment des résistances liées aux effecteurs TAL comme *Xa27* ou *xa5* (Kumar *et al.*, 2020), sélectionnant rapidement les bactéries portant de nouveaux effecteurs de virulence. Dans le cas des souches *Xpp-Xcf*, le faible nombre d'effecteurs TAL par souche pourrait alors suggérer que le haricot aurait développé peu de résistances aux effecteurs TAL et/ou que les effecteurs TAL seraient apparus récemment dans les souches de *Xpp-Xcf*.

De manière intéressante, *PvAIL1* cible de XfuTAL1 et *ENODL18* cible potentielle de XfuTAL2, sont des gènes proches d'autres cibles d'effecteurs TAL déjà identifiées. En effet, *PvAIL1* appartient à la grande famille des AP2/ERF tout comme le gène de sensibilité *OsERF#123* induit par TalB chez le riz (Tran *et al.*, 2018). *ENODL18* appartient à la famille des nodulines tout comme les gènes *SWEET* induits par de nombreux effecteurs TAL dans d'autres pathosystèmes (Cohn *et al.*, 2014; Cox *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2014; Perez-Quintero and Szurek, 2019). De plus, l'analyse des prédictions de cibles de XfuTAL4 a montré que cet effecteur ciblerait un gène de la famille des facteurs de transcription LOB, famille qui est déjà ciblée par plusieurs effecteurs TAL chez les agrumes. Ces observations suggèrent qu'il y aurait une convergence évolutive des effecteurs TAL vers des voies métaboliques communes. Ces voies seraient donc importantes pour le développement des bactérioses dues à *Xanthomonas* sur les plantes.

Cependant, au sein de ces grandes familles, les cibles des effecteurs TAL de *Xpp-Xcf* sont éloignées phylogénétiquement des cibles connues des autres effecteurs TAL, car elles n'appartiennent pas au même sous-groupe. *PvAIL1* est un AP2 alors que *OsERF#123* est un ERF et *ENODL18* est un early noduline-like ce qui est différent du sous-groupe des SWEET.

Ces résultats suggèrent alors qu'il existe différentes cibles dans les voies de sensibilité. Il est donc possible d'imaginer que les cibles des effecteurs TAL de *Xpp-Xcf* induisent des voies de sensibilité efficaces chez le haricot. Les effecteurs TAL pourraient alors participer à l'adaptation de ces souches au haricot, comme suggéré par le transfert horizontal de *Xfutal1* et *Xfutal2* entre *Xcf* et *Xpp* (Ruh *et al.*, 2017).

1.4.1. Rôle et évolution de *Xfutal1*

La validation de *PvAIL1* comme gène de sensibilité induit par XfuTAL1 constitue la première cible d'effecteur TAL identifiée dans le pathosystème haricot-*Xanthomonas*. De manière intéressante, la protéine AIL1 chez le peuplier régule le cycle cellulaire en régulant des cyclines de type D (Karlberg *et al.*, 2011). Par ailleurs, une cycline de type D est ciblée par un effecteur TAL chez le riz, ce qui permet de contrer les défenses déclenchées par une interaction Avr/R (Cai *et al.*, 2017). Les auteurs font alors l'hypothèse que l'induction de cette cycline pourrait perturber l'activation de cyclines dépendant-kinases (CDK), ce qui altèrerait la signalisation conduisant au développement des défenses. Chez le haricot, il est possible d'imaginer que l'induction de *PvAIL1* engendrerait une modification de l'expression de cyclines de type D, puis de CDK ce qui pourrait bloquer une partie de la signalisation conduisant au développement des défenses. Cependant, chez JaloEEP558, des symptômes se développent même en absence de XfuTAL1 (chapitres 2 et 3), ce qui voudrait dire, si on suit cette hypothèse, que XfuTAL1 participerait à inhiber une résistance résiduelle potentiellement présente dans ce génotype sensible.

D'autre part, les gènes de la famille AIL sont souvent impliqués dans la régulation du développement floral, l'embryogenèse et le développement des tiges et des racines (Horstman *et al.*, 2014). Sachant que la principale voie de dissémination de *Xpp-Xcf* est la semence contaminée, il est possible que cette cible joue un rôle dans ce processus. Pour évaluer cela, il serait intéressant de tester la capacité de transmission de souches sauvages, mutantes de *Xfutal1* ou bien portant des dTALE capables d'induire *PvAIL1*. L'implication potentielle des effecteurs TAL dans la transmission de *Xanthomonas* chez le haricot sera évaluée dans le cadre d'un des workpackages du projet PPR SUCSEED (2021-2026).

Xfutal1 est représenté par une diversité d'allèles, dont *tal23A, tal22B* et *tal22C* présents dans des souches *Xcf,* et *tal21D, tal19I* et *tal19E* présents dans des souches *Xpp* (Ruh *et al.*, 2017). De manière intéressante, les allèles *tal21D* et *tal19I* ne parviennent pas à induire *PvAIL1* et à augmenter significativement l'agressivité de *Xcf*. Ces résultats suggèrent que ces allèles ne sont pas fonctionnels chez *Xcf*. A l'inverse, TAL19E bien que spécifique des *Xpp*, parvient à augmenter l'agressivité de *Xcf* et à induire le gène *PvAIL1*. Par ailleurs, l'allèle *tal19E* est présent sur un plasmide tandis que les allèles *tal21D* et *tal19I* se seraient récemment intégrés dans le chromosome de *Xpp*. Il a été montré que *Xfutal1* aurait été transféré horizontalement par l'intermédiaire de plasmides entre des souches *Xpp* et *Xcf* vivants en sympatrie (Ruh *et al.*, 2017). Il est alors tentant d'imaginer que l'intégration chromosomique des allèles *tal21D* et *tal19I* ait aboutit à un isolement de ces allèles de l'environnement génétique des *Xcf*, ce qui pourrait avoir engendré une spécialisation de ces allèles dans les souches *Xpp* et une perte de

fonction dans les souches *Xcf*. Pour appuyer cette hypothèse, il serait intéressant de chercher la présence de *tal19E* dans une plus grande collection de souches *Xcf* et de *tal23A*, *tal22B* et *tal22C* dans des souches *Xpp*. En effet, la présence de divers allèles plasmidiques partagés entre *Xpp* et *Xcf* serait une preuve que ces allèles plasmidiques ont été transférés récemment entre *Xpp* et *Xcf*, ce qui pourrait avoir favorisé le maintien de leur fonction dans les deux pathovars.

1.4.2. Le rôle de *Xfutal2*

Xfutal2 est un effecteur TAL présent dans les lignées génétiques fuscans et NF1. Cet effecteur présente des répétitions atypiques portant le RVD HY et commençant par le motif MTLA. Nous avons montré que HY se fixait à l'adénine, et que le motif MTLA permet d'augmenter l'efficacité d'accroche de HY à l'adénine tout en lui permettant de s'accrocher aussi à la cytosine (chapitre 4). Au sein de XfuTAL2, il y aurait donc eu une coévolution entre un RVD peu commun et le motif MTLA afin d'optimiser le fonctionnement de ces répétitions atypiques et donc de l'effecteur TAL18H. Pour caractériser finement l'influence de MTLA sur la capacité d'accroche de HY, il pourrait être intéressant d'évaluer la structure de cette répétition lors de son interaction avec l'ADN par cristallographie, comme cela a déjà pu être fait pour d'autres répétitions (Deng *et al.*, 2012a).

Au cours de cette thèse, nous avons montré que XfuTAL2 augmente l'agressivité de la souche 6546R avec ou sans le motif MTLA. XfuTAL2 serait donc capable d'induire une cible responsable de l'augmentation des symptômes indépendamment du motif MTLA. Cependant, nous avons aussi montré que la population bactérienne sur plante est plus importante lorsque les souches portent XfuTAL2 associé au motif MTLA que lorsqu'elles portent XfuTAL2 associé au motif classique LTPE. Le motif MTLA pourrait alors être responsable de l'induction d'une seconde cible importante pour la croissance bactérienne. Cette hypothèse est cohérente avec le fait que le motif MTLA peut élargir la spécificité d'accroche de HY à la cytosine, alors qu'avec LTPE, HY n'accroche que l'adénine. En effet, si la spécificité d'accroche de certaines répétitions est moins restrictive, alors le nombre de séquences d'EBE compatibles sera plus important. Il a d'ailleurs déjà été montré qu'un effecteur TAL pouvait induire plusieurs gènes cibles (Schwartz *et al.*, 2017; Tran *et al.*, 2018). Durant cette thèse nous avons testé deux cibles potentielles de XfuTAL2 (*TALIR* et *PvNDH18*), et nous avons montré que l'induction de l'une ou l'autre de ces cibles n'engendrait pas d'augmentation des symptômes (Chapitre 4). Cependant, il aurait pu être intéressant de coinoculer des dTALE ciblant *TALIR* et *PvNDH18*, afin de voir si l'induction des deux cibles pourraient conduire à une augmentation des symptômes.

D'autres cibles que *TALIR* et *PvNDH18* ont été prédites par les logiciels de prédictions TALVEZ et Target Finder. Une analyse transcriptomique globale a montré que XfuTAL2 induit le métabolisme des glucides (chapitre 4). Cette observation penche en faveur de la cible potentielle *ENODL18*, car cette protéine appartient à la famille des nodulines qui contient aussi les gènes *SWEET* impliqués dans le transport des glucides. Cependant, les fonctions associées aux early noduline-like sont encore mal connues. Certaines ENODL sont impliquées dans l'immunité, la reproduction ou encore la tolérance au stress osmotique

(Hou *et al.*, 2016; Khan *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2011). De façon intéressante, une étude faite chez *A. thaliana* montre que ENODL9 s'accumule au niveau de la membrane plasmique des cellules du phloème, tandis que la mutation du gène *ENODL9* conduit à une formation retardée et un remplissage moins important des siliques (Khan *et al.*, 2007). Sachant que ENODL9 est localisé au niveau d'une zone de transport des glucides et que les glucides jouent un rôle important dans le développement floral et le remplissage des siliques, il est possible que certains ENODL jouent un rôle dans le métabolisme des glucides (Denancé *et al.*, 2014).

2. La durabilité des résistances

Bien que les résistances génétiques semblent être la meilleure option pour lutter contre la graisse commune du haricot, il est important d'éviter autant que possible le contournement de ces résistances. La durabilité de la résistance est définie par le temps nécessaire à un agent pathogène pour contourner la résistance (Bourguet *et al.*, 2016). Ce paramètre est influencé notamment par la pression de sélection qu'exerce la résistance sur l'agent pathogène. Pour construire une résistance durable, Bourguet *et al.* (2016) présentent les 4 stratégies qui sont utilisées aujourd'hui. Il est possible d'utiliser (*i*) des génotypes portant plusieurs gènes de résistance (pyramidage), (*ii*) d'utiliser un mélange spatial de génotypes ayant différents gènes de résistance, (*iii*) de faire des rotations temporelles de génotypes ayant différents gènes de résistance, ou bien (*iv*) d'utiliser un gène de résistance jusqu'à son contournement avant d'utiliser un autre gène de résistance. Assez peu d'études ont comparé la durabilité de la résistance associée à chaque stratégie, néanmoins une étude a montré à l'aide d'un modèle que les mélanges spatiaux pouvaient être tout aussi efficaces que le pyramidage (Sapoukhina *et al.*, 2009), tandis qu'une étude expérimentale a montré que la stratégie de pyramidage était plus durable que les stratégies de mélanges ou de rotations (Djian-Caporalino *et al.*, 2014). De plus, l'addition de résistances quantitatives dans ces stratégies permet d'augmenter la durabilité des résistances (Mundt, 2014). Ce phénomène est dû au fait que les résistances quantitatives sont codées par des QRL comportant plusieurs gènes ce qui complexifie le contournement de la résistance. De plus, la résistance est souvent non totale ce qui induirait une pression de sélection moins forte sur les agents pathogènes (Mundt, 2014).

2.1. La résistance aux effecteurs TAL

L'identification de *PvAIL1* comme cible de XfuTAL1 offre de nouvelles possibilités pour rechercher des résistances spécifiques contre la graisse commune. Ces aspects seront développés lors de la thèse de Charlotte Gaudin qui commence dès novembre 2020. Premièrement, des variants naturels d'EBE liés à un développement de résistance seront recherchés dans une collection d'accessions de haricot. Cependant, il semblerait que ces variations soient peu fréquentes, car lors de travaux similaires chez le riz seulement un variant d'EBE a pu être découvert sur 169 génotypes de riz différents (Hutin *et al.*, 2015b). Il pourrait donc être envisagé de modifier l'EBE de XfuTAL1 par édition génomique comme cela a été fait chez le riz (Hutin *et al.*, 2015a; Li *et al.*, 2012). Cependant, il est important de noter que l'EBE de *PvAIL1* contient une boîte TATA qui est un élément important pour la régulation des

gènes. La modification de cette EBE pourrait donc perturber la régulation de l'expression de *PvAIL1*. De plus, la mutation de l'EBE de *PvAIL1* n'engendrera certainement pas une résistance totale car même des souches ne portant pas *Xfutal1* sont agressives, comme nous avons pu le montrer dans le chapitre 2.

De façon intéressante, l'étude transcriptomique présentée dans le chapitre 1 a mis en évidence 35 gènes potentiellement impliqués dans la résistance du haricot à *Xpp*. Pour valider le rôle de ces gènes dans le développement de la résistance, des dTALE capables d'induire ces gènes ont été construits durant le stage de master 2 de Charlotte Gaudin. Ainsi, durant sa thèse, Charlotte pourra induire ces gènes chez JaloEEP558 afin de juger de leur implication dans la résistance. Les gènes impliqués dans la résistance pourraient alors être utilisés pour devenir des gènes exécuteurs, en plaçant des EBE d'effecteurs TAL de *Xpp-Xcf* dans le promoteur de ces gènes par édition génomique.

Ces stratégies de développement de résistances par les effecteurs TAL sont intéressantes car elles devraient être efficaces contre de nombreuses souches de *Xpp-Xcf*. Cependant, la modification d'une EBE existante ou le placement d'une EBE dans le promoteur d'un gène de résistance implique une modification du génome. Le haricot est réputé pour être récalcitrant à la transformation (Hnatuszko-Konka *et al.*, 2014), néanmoins de nouvelles avancées récentes pourraient rendre possible la transformation de certains génotypes de haricot (Hnatuszko-Konka *et al.*, 2019). Par ailleurs, la modification des génomes des plantes suit une législation complexe et diversifiée à travers le monde, ce qui peut compliquer la commercialisation de plantes portant ce genre de résistance.

Le développement de résistance aux effecteurs TAL semble prometteur, cependant, ces résistances seront-elles durables ? Car les *Xanthomonas* ont développé des stratégies pour contrer ces résistances. Par exemple, les effecteurs TAL peuvent s'adapter à des EBE modifiées en mutant leurs répétitions, en portant des répétitions de longueur aberrante ou bien les souches peuvent acquérir d'autres effecteurs TAL capables d'induire la même cible en fixant une autre EBE (Hutin *et al.*, 2015a; Richter *et al.*, 2014). Pour optimiser la durabilité de la résistance, il serait préférable de modifier les premières bases azotées de l'EBE, car elles sont essentielles pour l'accroche de l'effecteur TAL (Meckler *et al.*, 2013; Pérez-Quintero *et al.*, 2013). Aussi, les insertions ou les délétions de plusieurs paires de bases pourraient être plus durables, car les effecteurs TAL doivent alors modifier plusieurs de leurs répétitions pour pouvoir s'adapter à l'EBE modifiée. Pour contrer l'induction de gènes exécuteurs, les souches de *Xanthomonas* peuvent perdre les effecteurs induisant ces gènes de résistance, ou bien les effecteurs TAL peuvent muter afin de ne plus fixer les EBE présentes dans le promoteur des gènes exécuteurs (Koskiniemi *et al.*, 2012). Il a d'ailleurs été montré que la perte de l'effecteur AvrXa10 capable d'induire le gène exécuteur *Xa10* chez le riz n'engendrait pas de perte de fitness chez *Xoo* (Vera Cruz *et al.*, 2000). Ces résultats suggèrent alors que dans certains cas, la résistance par les gènes exécuteurs est peu durable car les bactéries contournent rapidement cette résistance sans perte de fitness. Pour augmenter la durabilité de ce genre de résistance, il faudrait utiliser les EBE d'un effecteur TAL majeur pour l'agressivité des souches. Ainsi, la perte de l'effecteur engendrerait une perte de fitness.

Par ailleurs, certains effecteurs TAL peuvent contrer la résistance induite par d'autres effecteurs TAL. C'est le cas par exemple de Tal7 chez *Xoc*, qui est capable de bloquer la résistance induite par la reconnaissance de l'effecteur AvrXa7 par le gène de résistance *Xa7* (Cai *et al.*, 2017). Ce dernier exemple montre que les effecteurs TAL parviennent souvent à contourner les résistances des plantes. Pour développer des résistances durables, il serait alors préférable de faire du pyramidage en incluant dans un même génotype plusieurs mécanismes de résistance à différents effecteurs TAL. Il est aussi possible de cultiver des mélanges variétaux sur une même parcelle avec des génotypes ayant différentes résistances. Ainsi, le contournement de la résistance par les bactéries sera limité.

2.2. Les autres moyens de résistance

En dehors des effecteurs TAL, il existe d'autres moyens d'engendrer de la résistance à la graisse commune du haricot, notamment en sélectionnant des génotypes portant des gènes liés à la résistance ou des QRL (Singh and Miklas, 2015). Lors de notre étude transcriptomique (chapitre 1), nous avons mis en évidence 35 gènes potentiellement impliqués dans la résistance ou la sensibilité du haricot à *Xpp*. De façon intéressante, la majorité de ces gènes colocalise avec les QRL découvert chez BAT93 par Nodari *et al.* (1993), ce qui montre que les QRL pourraient être fonctionnels en modifiant l'expression de certains gènes. De façon intéressante, certains QRL peuvent être définis comme des eQTL (Expression Quantitative Trait Locus) correspondant à des régions génomiques présentant une variation d'abondance d'ARN en fonction d'un trait phénotypique (Druka *et al.*, 2010). La détection de eQTL de résistance à *Xanthomonas* chez le haricot n'a jamais été menée. Cependant, ce genre d'étude pourrait apporter des connaissances supplémentaires pour le développement de résistance et la compréhension de ce pathosystème.

Enfin, plus récemment il a été proposé que le microbiote des plantes pouvait participer à la résistance des plantes. En effet, les microorganismes commensaux peuvent jouer un rôle important dans l'immunité en déclenchant des défenses (ISR : Induced Systemic Resistance) ou en entrant en compétition avec les agents pathogènes (Vannier *et al.*, 2019). De façon intéressante, certains effecteurs TAL de *Ralstonia* pourraient être impliqués dans la compétition entre microorganismes (Wu *et al.*, 2019). Il est tentant de penser que les effets produits par les effecteurs TAL (export de sucres, prolifération cellulaire, modifications des parois...) pourraient influencer le microbiote des plantes. Suivant cette hypothèse, il serait donc intéressant d'évaluer le rôle des effecteurs TAL de *Xpp-Xcf* sur la composition du microbiote du haricot.

Conclusion générale

Les travaux réalisés pendant cette thèse ont permis d'enrichir les connaissances sur l'interaction haricot-*Xanthomonas,* notamment en révélant l'impact de *Xanthomonas* sur le transcriptome du haricot en contextes résistant et sensible, et en découvrant un gène de sensibilité induit par un effecteur TAL partagé entre les différentes lignées de *Xpp-Xcf*.

Cette thèse confirme que l'utilisation de données transcriptomiques permet de mieux comprendre le dialogue moléculaire qui s'installe entre une plante et son agent pathogène. En effet, grâce à ce type de données, nous avons pu mettre en évidence des gènes liés à des voies métaboliques qui semblent impliquées dans la sensibilité ou la résistance du haricot à *Xanthomonas*. Aussi, nous avons découvert 35 gènes qui pourraient être des acteurs majeurs de la sensibilité ou de la résistance. La validation de ces gènes permettra d'apporter de nouvelles perspectives quant au développement de résistances chez le haricot à *Xanthomonas.* Par ailleurs, la découverte d'une cible commune à plusieurs allèles d'un effecteur TAL partagé au sein des *Xpp-Xcf* offre de nouvelles possibilités pour développer de nouvelles stratégies de résistance à *Xpp-Xcf*.

Plusieurs études ont déjà montré que les effecteurs TAL sont importants pour l'agressivité des *Xanthomonas* dans quelques autres pathosystèmes. Les résultats de cette thèse viennent conforter cette idée, en démontrant que ces effecteurs sont aussi importants pour l'agressivité dans le cas du pathosystème haricot-*Xanthomonas.* Par ailleurs, cette thèse montre aussi l'importance d'étudier la structure des effecteurs TAL pour mieux comprendre leur fonctionnement comme facteur de virulence, mais aussi pour pouvoir potentiellement améliorer les outils d'édition génomique comme les TALEN.

Références bibliographies

Aarts, N., Metz, M., Holub, E., Staskawicz, B. J., Daniels, M. J., and Parker, J. E. (1998). Different requirements for EDS1 and NDR1 by disease resistance genes define at least two R gene-mediated signaling pathways in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 10306–10311. doi:10.1073/pnas.95.17.10306.

Abdel-Fattah, G. M., El-Haddad, S. A., Hafez, E. E., and Rashad, Y. M. (2011). Induction of defense responses in common bean plants by arbuscular mycorrhizal fungi. *Microbiol. Res.* 166, 268–281. doi:10.1016/j.micres.2010.04.004.

Abe, V. Y., and Benedetti, C. E. (2016). Additive roles of PthAs in bacterial growth and pathogenicity associated with nucleotide polymorphisms in effector-binding elements of citrus canker susceptibility genes. *Mol. Plant Pathol.* 17, 1223–1236. doi:10.1111/mpp.12359.

Abramovitch, R. B., and Martin, G. B. (2004). Strategies used by bacterial pathogens to suppress plant defenses. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7, 356–364. doi:10.1016/j.pbi.2004.05.002.

Adam-Blondon, A. F., Sévignac, M., Bannerot, H., and Dron, M. (1994). SCAR, RAPD and RFLP markers linked to a dominant gene (Are) conferring resistance to anthracnose in common bean. *Theor. Appl. Genet.* 88, 865–870. doi:10.1007/BF01253998.

Ádám, A. L., Nagy, Z., Kátay, G., Mergenthaler, E., and Viczián, O. (2018). Signals of systemic immunity in plants: Progress and open questions. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1–21. doi:10.3390/ijms19041146.

Aggour, A. R., Coyne, D. P., and Vidaver, A. K. (1989). Comparison of leaf and pod disease reactions of beans (Phaseolus vulgaris L.) inoculated by different methods with strains of Xanthomonas campestris pv. Phaseoli (Smith) dye. *Euphytica* 43, 143–152. doi:10.1007/BF00037907.

Ahuja, I., Kissen, R., and Bones, A. M. (2012). Phytoalexins in defense against pathogens. *Trends Plant Sci.* 17, 73–90. doi:10.1016/j.tplants.2011.11.002.

Akhavan, A., Bahar, M., Askarian, H., Lak, M. R., Nazemi, A., and Zamani, Z. (2013). Bean common bacterial blight: Pathogen epiphytic life and effect of irrigation practices. *Springerplus* 2, 1–9. doi:10.1186/2193-1801-2-41.

Al-Saadi, A., Reddy, J. D., Duan, Y. P., Brunings, A. M., Yuan, Q., and Gabriel, D. W. (2007). All five host-range variants of Xanthomonas citri carry one pthA homolog with 17.5 repeats that determines pathogenicity on citrus, but none determine host-range variation. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 20, 934–943. doi:10.1094/MPMI-20-8-0934.

Alavi, S. M., Sanjari, S., Durand, F., Brin, C., Manceau, C., and Poussier, S. (2008). Assessment of the genetic diversity of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and Xanthomonas fuscans subsp. fuscans as a basis to identify putative pathogenicity genes and a type III secretion system of the SPI-1 family by multiple suppression subtractive h. *Appl. Environ.*

Microbiol. 74, 3295–3301. doi:10.1128/AEM.02507-07.

Albert, I., Böhm, H., Albert, M., Feiler, C. E., Imkampe, J., Wallmeroth, N., *et al.* (2015). An RLP23-SOBIR1-BAK1 complex mediates NLP-triggered immunity. *Nat. Plants* 1, 1–9. doi:10.1038/nplants.2015.140.

An, S., Potnis, N., Dow, M., He, Y., Becker, A., Teper, D., *et al.* (2019). Mechanistic insights into host adaptation , virulence and epidemiology of the phytopathogen Xanthomonas. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1–32. doi:10.1093/femsre/fuz024.

Anderson, J. T., Rogers, J. M., Barrera, L. A., and Bulyk, M. L. (2020). Context and number of noncanonical repeat variable diresidues impede the design of TALE proteins with improved DNA targeting. *Protein Sci.* 29, 606–616. doi:10.1002/pro.3801.

Angioi, S. A., Rau, D., Rodriguez, M., Logozzo, G., Desiderio, F., Papa, R., *et al.* (2009). Nuclear and chloroplast microsatellite diversity in Phaseolus vulgaris L. from Sardinia (Italy). *Mol. Breed.* 23, 413–429. doi:10.1007/s11032-008-9245-8.

Antony, G., Zhou, J., Huang, S., Li, T., Liu, B., White, F., *et al.* (2010). Rice xa13 recessive resistance to bacterial blight is defeated by induction of the disease susceptibility gene Os-11N3. *Plant Cell* 22, 3864–3876. doi:10.1105/tpc.110.078964.

Ararsa, L., Fikre, L., and Getachew, A. (2018). Evaluation of Integrated Management of Common Bacterial Blight of Common Bean in Central Rift Valley of Ethiopia. *Am J Phytomed Clin Ther* 6, 3. doi:10.21767/2321-2748.100339.

Ariani, A., Mier Teran, J. C. B., and Gepts, P. (2018). Spatial and Temporal Scales of Range Expansion in Wild Phaseolus vulgaris. *Mol. Biol. Evol.* 35, 119–131. doi:10.1093/molbev/msx273.

Aritua, V., Harrison, J., Sapp, M., Buruchara, R., Smith, J., and Studholme, D. J. (2015). Genome sequencing reveals a new lineage associated with lablab bean and genetic exchange between Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and Xanthomonas fuscans subsp. fuscans. *Front. Microbiol.* 6, 1–18. doi:10.3389/fmicb.2015.01080.

Ariyarathne, H. M., Coyne, D. P., Jung, G., Skroch, P. W., Vidaver, A. K., Steadman, J. R., *et al.* (1999). Molecular mapping of disease resistance genes for halo blight, common bacterial blight, and bean common mosaic virus in a segregating population of common bean. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 124, 654–662. doi:10.21273/jashs.124.6.654.

Arnaud-Santana, E., Coyne, D. P., Eskridge, K. M., and Vidaver, A. K. (1994). Inheritance; Low Correlations of Leaf, Pod, and Seed Reactions to Common Blight Disease in Common Beans; and Implications for Selection. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 119, 116–121.

Arnaud-Santana, E., Pena-Matos, E., Coyne, D. P., and Vidaver, A. K. (1991). Longevity of Xanthomonas campestris pv. phaseoli in Naturally Infested Dry Bean (Phaseolus vulgaris

) Debris. *Plant Dis.* 75, 952–953. doi:10.1094/pd-75-0952.

Arnaud, D., and Hwang, I. (2015). A sophisticated network of signaling pathways regulates stomatal defenses to bacterial pathogens. *Mol. Plant* 8, 566–581. doi:10.1016/j.molp.2014.10.012.

Aslam, S. N., Newman, M. A., Erbs, G., Morrissey, K. L., Chinchilla, D., Boller, T., *et al.* (2008). Bacterial Polysaccharides Suppress Induced Innate Immunity by Calcium Chelation. *Curr. Biol.* 18, 1078–1083. doi:10.1016/j.cub.2008.06.061.

Audy, P., Laroche, A., Saindon, G., Huang, H. C., and Gilbertson, R. L. (1994). Detection of the bean common blight bacteria, Xanthomonas campestris pv. phaseoli and X.c.phaseoli var. fuscans, using the polymerase chain reaction. *Phytopathology* 84, 1185–1192. doi:10.1094/phyto-84-1185.

Axtell, M. J., and Staskawicz, B. J. (2003). Initiation of RPS2-Specified Disease Resistance in Arabidopsis Is Coupled to the AvrRpt2-Directed Elimination of RIN4. *Cell* 112, 369–377. doi:10.1016/S0092-8674(03)00036-9.

Babadoost, M., and Babadoost, A. (2012). Outbreak of Bacterial Spot (Xanthomonas cucurbitae) in Pumpkin Fields in Illinois. *Plant Dis.* 96, 1222–1222. doi:10.1094/PDIS-03-12-0241-PDN.

Bai, Y., Michaels, T. E., and Pauls, K. P. (1997). Identification of RAPD markers linked to common bacterial blight resistance genes in Phaseolus vulgaris L. *Genome* 40, 544–551. doi:10.1139/g97-071.

Baker, N. J., Bancroft, B. A., and Garcia, T. S. (2013). Corrigendum to A meta-analysis of the effects of pesticides and fertilizers on survival and growth of amphibians [Sci Total Environ 449 (2013) 150-156]. *Sci. Total Environ.* 454–455, 639–640. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.03.049.

Bari, R., and Jones, J. D. G. (2009). Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Mol. Biol.* 69, 473–488. doi:10.1007/s11103-008-9435-0.

Barili, L. D., Vale, N. M., Moura, L. M., Paula, R. G., Silva, F. F., and Carneiro, J. E. S. (2016). Genetic progress resulting from forty-three years of breeding of the carioca common bean in Brazil. *Genet. Mol. Res.* 15, 1–11. doi:10.4238/gmr.15038523.

Barrangou, R., and Doudna, J. A. (2016). Applications of CRISPR technologies in research and beyond. *Nat. Biotechnol.* 34, 933–941. doi:10.1038/nbt.3659.

Beattie, G. A., and Lindow, S. E. (1995). The Secret Life of Foliar Bacterial Pathogens on Leaves. *Annu. Rev. Phytopathol.* 33, 145–172. doi:10.1146/annurev.py.33.090195.001045.

Beebe, S., Rao, I., Mukankusi, C., and Buruchara, R. (2013). “Improving Resource Use Efficiency and Reducing Risk of Common Bean Production in Africa, Latin America, and the Caribbean,” in *Eco-efficiency: From vision to reality* (Cali, Colombia : CIAT), 117–134.

Belete, T., and Bastas, K. (2017). Common Bacterial Blight (Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli) of Beans with Special Focus on Ethiopian Condition. *J. Plant Pathol. Microbiol.* 8, 403. doi:10.4172/2157-7471.1000403.

Bellincampi, D., Cervone, F., and Lionetti, V. (2014). Plant cell wall dynamics and wall-related susceptibility in plant-pathogen interactions. *Front. Plant Sci.* 5, 1–8. doi:10.3389/fpls.2014.00228.

Bellucci, E., Bitocchi, E., Ferrarini, A., Benazzo, A., Biagetti, E., Klie, S., *et al.* (2014a). Decreased nucleotide and expression diversity and modified coexpression patterns characterize domestication in the common bean. *Plant Cell* 26, 1901–1912. doi:10.1105/tpc.114.124040.

Bellucci, E., Bitocchi, E., Rau, D., Rodriguez, M., Biagetti, E., Giardini, A., *et al.* (2014b). “Genomics of Origin, Domestication and Evolution of Phaseolus vulgaris,” in *Genomics of Plant Genetic Resources: Volume 1. Managing, Sequencing and Mining Genetic Resources*, 1–710. doi:10.1007/978-94-007-7572-5.

Ben-David, A., Bashan, Y., and Okon, Y. (1986). Ethylene production in pepper (Capsicum annuum) leaves infected with Xanthomonas campestris pv. vesicatoria. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 29, 305–316. doi:10.1016/S0048-4059(86)80047-9.

Benjamini, Y., and Hochberg, Y. (1995). Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* 57, 289–300. doi:10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x.

Bent, A. F., and Mackey, D. (2008). Elicitors, effectors, and R genes: The new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annu. Rev. Phytopathol.* 45, 399–436. doi:10.1146/annurev.phyto.45.062806.094427.

Berg, S., Kutra, D., Kroeger, T., Straehle, C. N., Kausler, B. X., Haubold, C., *et al.* (2019). Ilastik: Interactive Machine Learning for (Bio)Image Analysis. *Nat. Methods* 16, 1226–1232. doi:10.1038/s41592-019-0582-9.

Berger, S., Sinha, A. K., and Roitsch, T. (2007). Plant physiology meets phytopathology: Plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. *J. Exp. Bot.* 58, 4019–4026. doi:10.1093/jxb/erm298 REVIEW.

Bernstein, D. L., Le Lay, J. E., Ruano, E. G., and Kaestner, K. H. (2015). TALE-mediated epigenetic suppression of CDKN2A increases replication in human fibroblasts. *J. Clin. Invest.* 125, 1998–2006. doi:10.1172/JCI77321.

Bethke, G., Unthan, T., Uhrig, J. F., Pöschl, Y., Gust, A. A., Scheel, D., *et al.* (2008). Flg22 regulates the release of an ethylene response factor substrate from MAP kinase 6 in Arabidopsis thaliana via ethylene signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 8067–8072. doi:10.1073/pnas.0810206106.

Beurdeley, M., Bietz, F., Li, J., Thomas, S., Stoddard, T., Juillerat, A., *et al.* (2013). Compact designer TALENs for efficient genome engineering. *Nat. Commun.* 4, 1762–1768. doi:10.1038/ncomms2782.

Bilgin, D. D., Zavala, J. A., Zhu, J., Clough, S. J., Ort, D. R., and Delucia, E. H. (2010). Biotic stress globally downregulates photosynthesis genes. *Plant, Cell Environ.* 33, 1597–1613. doi:10.1111/j.1365-3040.2010.02167.x.

Binder, B. M. (2020). Ethylene signaling in plants. *J. Biol. Chem.* 295, 7710–7725. doi:10.1074/jbc.REV120.010854.

Birch, P. R. J., Hyman, L. J., Taylor, R., Opio, A. F., Bragard, C., and Toth, I. K. (1997). RAPD PCR-based differentiation of Xanthomonas campestris pv. phaseoli and Xanthomonas campestris pv. phaseoli var. fuscans. *Eur. J. Plant Pathol.* 103, 809–814. doi:10.1023/A:1008698726790.

Bitocchi, E., Bellucci, E., Giardini, A., Rau, D., Rodriguez, M., Biagetti, E., *et al.* (2013). Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (Phaseolus vulgaris) in Mesoamerica and the Andes. *New Phytol.* 197, 300–313. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04377.x.

Bitocchi, E., Nanni, L., Bellucci, E., Rossi, M., Giardini, A., Zeuli, P. S., *et al.* (2012). Mesoamerican origin of the common bean (Phaseolus vulgaris L.) is revealed by sequence data. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109. doi:10.1073/pnas.1108973109.

Bitocchi, E., Rau, D., Bellucci, E., Rodriguez, M., Murgia, M. L., Gioia, T., *et al.* (2017). Beans (Phaseolus ssp.) as a Model for Understanding Crop Evolution. *Front. Plant Sci.* 8, 1–21. doi:10.3389/fpls.2017.00722.

Blair, M. W., Medina, J. I., Astudillo, C., Rengifo, J., Beebe, S. E., Machado, G., *et al.* (2010). QTL for seed iron and zinc concentration and content in a Mesoamerican common bean (Phaseolus vulgaris L.) population. *Theor. Appl. Genet.* 121, 1059–1070. doi:10.1007/s00122-010-1371-0.

Blair, M. W., Pedraza, F., Buendia, H. F., Gaitán-Solís, E., Beebe, S. E., Gepts, P., *et al.* (2003). Development of a genome-wide anchored microsatellite map for common bean (Phaseolus vulgaris L.). *Theor. Appl. Genet.* 107, 1362–1374. doi:10.1007/s00122-003-1398-6.

Blanvillain-Baufumé, S., Reschke, M., Solé, M., Auguy, F., Doucoure, H., Szurek, B., *et al.* (2017). Targeted promoter editing for rice resistance to Xanthomonas oryzae pv. oryzae reveals differential activities for SWEET14-inducing TAL effectors. *Plant Biotechnol. J.* 15, 306–317. doi:10.1111/pbi.12613.

Boch, J., and Bonas, U. (2010). Xanthomonas AvrBs3 family-type III effectors: discovery and function. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48, 419–436. doi:10.1146/annurev-phyto-080508-081936.

Boch, J., Bonas, U., and Lahaye, T. (2014). TAL effectors--pathogen strategies and plant resistance engineering. *New Phytol.* 204, 823–832. doi:10.1111/nph.13015.

Boch, J., Scholze, H., Schornack, S., Landgraf, A., Hahn, S., Kay, S., *et al.* (2009). Breaking the Code of DNA Binding Specificity of TAL-Type III Effectors. *Science.* 326, 1509–1512. doi:10.1126/science.1178811.

Bock, C. H., Parker, P. E., Cook, A. Z., and Gottwald, T. R. (2008). Visual rating and the use of image analysis for assessing different symptoms of citrus canker on grapefruit leaves. *Plant Dis.* 92, 530–541. doi:10.1094/PDIS-92-4-0530.

Bock, C. H., Poole, G. H., Parker, P. E., and Gottwald, T. R. (2010). Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 29, 59–107. doi:10.1080/07352681003617285.

Boersma, J. G., Hou, A., Gillard, C. L., McRae, K. B., and Conner, R. L. (2015). Impact of common bacterial blight on the yield, seed weight and seed discoloration of different market classes of dry beans (Phaseolus vulgaris L.). *Can. J. Plant Sci.* 95, 703–710. doi:10.4141/cjps-2014-399.

Bogdanove, A. J., Schornack, S., and Lahaye, T. (2010). TAL effectors: Finding plant genes for disease and defense. *Curr. Opin. Plant Biol.* 13, 394–401.

Bogdanove, A. J., and Voytas, D. F. (2011). TAL effectors: Customizable proteins for DNA targeting. *Science.* 333, 1843–1846. doi:10.1126/science.1204094.

Boller, T., and Felix, G. (2009). A Renaissance of Elicitors: Perception of Microbe-Associated Molecular Patterns and Danger Signals by Pattern-Recognition Receptors. *Annu. Rev. Plant Biol.* 60, 379–406. doi:10.1146/annurev.arplant.57.032905.105346.

Bolukbasi, M. F., Gupta, A., Oikemus, S., Derr, A. G., Brodsky, M. H., Zhu, L. J., *et al.* (2015). DNA-binding domain fusions enhance the targeting range and precision of Cas9. *Nat. Methods* 12, 1150–1156. doi:10.1038/nmeth.3624.

Bonas, U., Conrads-Strauch, J., and Balbo, I. (1993). Resistance in tomato to Xanthomonas campestris pv vesicatoria is determined by alleles of the pepper-specific avirulence gene avrBs3. *MGG Mol. Gen. Genet.* 238, 261–269. doi:10.1007/BF00279555.

Bonas, U., Stall, R. E., and Staskawicz, B. (1989). Genetic and structural characterization of the avirulence gene avrBs3 from Xanthomonas campestris pv. vesicatoria. *MGG Mol. Gen. Genet.* 218, 127–136. doi:10.1007/BF00330575.

Boureau, T., Kerkoud, M., Chhel, F., Hunault, G., Darrasse, A., Brin, C., *et al.* (2013). A multiplex-PCR assay for identification of the quarantine plant pathogen Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli. *J. Microbiol. Methods* 92, 42–50. doi:10.1016/j.mimet.2012.10.012.

Bourguet, D., Delmotte, F., Franck, P., Guillemaud, T., Reboud, X., Vacher, C., *et al.* (2016). Combining selective pressures to enhance the durability of disease resistance genes. *Front. Plant Sci.* 7, 1–8. doi:10.3389/fpls.2016.01916.

Boutrot, F., and Zipfel, C. (2017). Function, Discovery, and Exploitation of Plant Pattern Recognition Receptors for Broad-Spectrum Disease Resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 55, 257–286. doi:10.1146/annurev-phyto-080614-120106.

Bowyer, P., Clarke, B. R., Lunness, P., Daniels, M. J., and Osbourn, A. E. (1995). Host range of a plant pathogenic fungus determined by a saponin detoxifying enzyme. *Science.* 267, 371–374. doi:10.1126/science.7824933.

Bradbury, J. (1984). "Genus II Xanthomonas Dowson 1939," in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1*, 199–210.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.

Briand, M., Gaborieau, R., Jacques, M., Barret, M., Boureau, T., Gaillard, S., *et al.* (2016). SkIf : a tool for rapid identification of genes or regulators of interest [version 1; not peer reviewed]. *F1000Research* 5, (poster). doi:10.7490/f1000research.1112490.1.

Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., and Vanderleyden, J. (2003). Beans (Phaseolus spp.) - model food legumes. *Plant Soil* 252, 55–128. doi:10.1023/A:1024146710611.

Brutus, A., Sicilia, F., Macone, A., Cervone, F., and De Lorenzo, G. (2010). A domain swap approach reveals a role of the plant wall-associated kinase 1 (WAK1) as a receptor of oligogalacturonides. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 9452–9457. doi:10.1073/pnas.1000675107.

Burch-Smith, T. M., Schiff, M., Caplan, J. L., Tsao, J., Czymmek, K., and Dinesh-Kumar, S. P. (2007). A novel role for the TIR domain in association with pathogen-derived elicitors. *PLoS Biol.* 5, 0501–0514. doi:10.1371/journal.pbio.0050068.

Bürger, M., and Chory, J. (2019). Stressed Out About Hormones: How Plants Orchestrate Immunity. *Cell Host Microbe* 26, 163–172. doi:10.1016/j.chom.2019.07.006.

Buruchara, R., Chirwa, R., Sperling, L., Mukankusi, C., Rubyogo, J. C., and Muthoni, R. (2011). Development and delivery of bean varieties in Africa: The Pan-Africa bean

research alliance (PABRA) model. *African Crop Sci. J. - A J. Trop. Crop Sci. Prod.* 19, 227–245.

Büttner, D., and Bonas, U. (2010). Regulation and secretion of Xanthomonas virulence factors. *FEMS Microbiol. Rev.* 34, 107–133. doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00192.x.

Büttner, D., and He, S. Y. (2009). Type III protein secretion in plant pathogenic bacteria. *Plant Physiol.* 150, 1656–1664. doi:10.1104/pp.109.139089.

Cafati, C. R., and Saettler, A. W. (1980a). Effect of Host on Multiplication and Distribution of Bean Common Blight Bacteria. *Phytopathology* 70, 675. doi:10.1094/phyto-70-675.

Cafati, C. R., and Saettler, A. W. (1980b). Transmission of Xanthomonas phaseoli in Seed of Resistant and Susceptible Phaseolus Genotypes. *Phytopathology*, 638–640.

Cai, L., Cao, Y., Xu, Z., Ma, W., Zakria, M., Zou, L., *et al.* (2017). A Transcription Activator-Like Effector Tal7 of Xanthomonas oryzae pv. Oryzicola Activates Rice Gene Os09g29100 to Suppress Rice Immunity. *Sci. Rep.* 7, 1–13. doi:10.1038/s41598-017-04800-8.

Canteros, B., Minsavage, G., Bonas, U., Pring, D., and Stall, R. (1991). A gene from Xanthomonas campestris pv. vesicatoria that determines avirulence in tomato is related to avrBs3. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 4, 628–632. doi:10.1094/MPMI-4-628.

Cao, Y., Liang, Y., Tanaka, K., Nguyen, C. T., Jedrzejczak, R. P., Joachimiak, A., *et al.* (2014). The kinase LYK5 is a major chitin receptor in Arabidopsis and forms a chitin-induced complex with related kinase CERK1. *Elife* 3, 1–19. doi:10.7554/eLife.03766.

Carella, P., Evangelisti, E., and Schornack, S. (2018). Sticking to it: phytopathogen effector molecules may converge on evolutionarily conserved host targets in green plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 44, 175–180. doi:10.1016/j.pbi.2018.04.019.

Carter, M. E., Carpenter, S. C. D., Dubrow, Z. E., Sabol, M. R., Rinaldi, F. C., Lastovetsky, O. A., *et al.* (2020). A TAL effector-like protein of an endofungal bacterium increases the stress tolerance and alters the transcriptome of the host. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* doi:10.1073/pnas.2003857117.

Catanzariti, A. M., Do, H. T. T., Bru, P., de Sain, M., Thatcher, L. F., Rep, M., *et al.* (2017). The tomato I gene for Fusarium wilt resistance encodes an atypical leucine-rich repeat receptor-like protein whose function is nevertheless dependent on SOBIR1 and SERK3/BAK1. *Plant J.* 89, 1195–1209. doi:10.1111/tpj.13458.

Catanzariti, A. M., Lim, G. T. T., and Jones, D. A. (2015). The tomato I-3 gene: A novel gene for resistance to Fusarium wilt disease. *New Phytol.* 207, 106–118. doi:10.1111/nph.13348.

Cermak, T., Doyle, E. L., Christian, M., Wang, L., Zhang, Y., Schmidt, C., *et al.* (2011). Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting. *Nucleic Acids Res.* 39, 1–11. doi:10.1093/nar/gkr218.

Cernadas, R. A., Doyle, E. L., Nino-Liu, D. O., Wilkins, K. E., Bancroft, T., Wang, L., *et al.* (2014). Code-Assisted Discovery of TAL Effector Targets in Bacterial Leaf Streak of Rice Reveals Contrast with Bacterial Blight and a Novel Susceptibility Gene. *Plos Pathog.* 10. doi:10.1371/journal.ppat.1003972.

Cesbron, S., Briand, M., Essakhi, S., Gironde, S., Boureau, T., Manceau, C., *et al.* (2015). Comparative genomics of pathogenic and nonpathogenic strains ofxanthomonas arboricola unveil molecular and evolutionary events linked to pathoadaptation. *Front. Plant Sci.* 6. doi:10.3389/fpls.2015.01126.

Che, F. S., Nakajima, Y., Tanaka, N., Iwano, M., Yoshida, T., Takayama, S., *et al.* (2000). Flagellin from an incompatible strain of Pseudomonas avenae induces a resistance response in cultured rice cells. *J. Biol. Chem.* 275, 32347–32356. doi:10.1074/jbc.M004796200.

Chen, L. (2014). SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. *New Phytol.* 201, 1150–1155. doi:10.1111/nph.12445.

Chen, L., Hou, B., Lalonde, S., Takanaga, H., Hartung, M. L., Qu, X., *et al.* (2010). Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nature* 468, 527–532. doi:10.1038/nature09606.

Chen, L., Qu, X., Hou, B., Sosso, D., Osorio, S., Fernie, A. R., *et al.* (2012). Sucrose efflux mediated by SWEET proteins as a key step for phloem transport. *Science.* 335, 207–211. doi:10.1126/science.1213351.

Chen, N. W. G., Ruh, M., Darrasse, A., Foucher, J., Briand, M., Costa, J., *et al.* Common bacterial blight of bean : a model of seed transmission and pathological convergence. *In prep.*

Chen, N. W. G., Serres-Giardi, L., Ruh, M., Briand, M., Bonneau, S., Darrasse, A., *et al.* (2018). Horizontal gene transfer plays a major role in the pathological convergence of Xanthomonas lineages on common bean. *BMC Genomics* 19, 1–20. doi:10.1186/s12864-018-4975-4.

Chen, Z., Agnew, J. L., Cohen, J. D., He, P., Shan, L., Sheen, J., *et al.* (2007). Pseudomonas syringae type III effector AvrRpt2 alters Arabidopsis thaliana auxin physiology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 20131–20136. doi:10.1073/pnas.0704901104.

Cheng, Q., Mao, W., Xie, W., Liu, Q., Cao, J., Yuan, M., *et al.* (2017). Characterization of a disease susceptibility locus for exploring an efficient way to improve rice resistance against bacterial blight. *Sci. China Life Sci.* 60, 298–306. doi:10.1007/s11427-016-0299-x.

Chiesa, M. A., Roeschlin, R. A., Favaro, M. A., Uviedo, F., Campos-Beneyto, L., D'Andrea, R., *et al.* (2019). Plant responses underlying nonhost resistance of Citrus limon against Xanthomonas campestris pv. campestris. *Mol. Plant Pathol.* 20, 254–269. doi:10.1111/mpp.12752.

Chin, C. S., Alexander, D. H., Marks, P., Klammer, A. A., Drake, J., Heiner, C., *et al.* (2013). Nonhybrid, finished microbial genome assemblies from long-read SMRT sequencing data. *Nat. Methods* 10, 563–569. doi:10.1038/nmeth.2474.

Chisholm, S. T., Coaker, G., Day, B., and Staskawicz, B. J. (2006). Host-microbe interactions: Shaping the evolution of the plant immune response. *Cell* 124, 803–814. doi:10.1016/j.cell.2006.02.008.

Cho, H. S., Kang, J. G., Lee, J. H., Lee, J. J., Jeon, S. K., Ko, J. H., *et al.* (2015). Direct regulation of E-cadherin by targeted histone methylation of TALE-SET fusion protein in cancer cells. *Oncotarget* 6, 23837–23844. doi:10.18632/oncotarget.4340.

Choi, H. W., and Klessig, D. F. (2016). DAMPs, MAMPs, and NAMPs in plant innate immunity. *BMC Plant Biol.* 16, 232. doi:10.1186/s12870-016-0921-2.

Choi, J., Tanaka, K., Cao, Y., Qi, Y., Qiu, J., Liang, Y., *et al.* (2014). Identification of a plant receptor for extracellular ATP. *Science.* 343, 290–294. doi:10.1126/science.343.6168.290.

Christian, M., Cermak, T., Doyle, E. L., Schmidt, C., Zhang, F., Hummel, A., *et al.* (2010). Targeting DNA double-strand breaks with TAL effector nucleases. *Genetics* 186, 756–761. doi:10.1534/genetics.110.120717.

Christian, M. L., Demorest, Z. L., Starker, C. G., Osborn, M. J., Nyquist, M. D., Zhang, Y., *et al.* (2012). Targeting G with TAL Effectors: A Comparison of Activities of TALENs Constructed with NN and NK Repeat Variable Di-Residues. *PLoS One* 7. doi:10.1371/journal.pone.0045383.

Chu, Z., Fu, B., Yang, H., Xu, C., Li, Z., Sanchez, A., *et al.* (2006). Targeting xa13, a recessive gene for bacterial blight resistance in rice. *Theor. Appl. Genet.* 112, 455–461.

Cohn, M., Bart, R. S., Shybut, M., Dahlbeck, D., Gomez, M., Morbitzer, R., *et al.* (2014). Xanthomonas axonopodis virulence is promoted by a transcription activator-like effector-mediated induction of a SWEET sugar transporter in cassava. *Mol. Plant Microbe Interact.* 27, 1186–1198. doi:10.1094/MPMI-06-14-0161-R.

Cong, L., Zhou, R., Kuo, Y., Cunniff, M., and Zhang, F. (2012). Comprehensive Interrogation of Natural TALE DNA Binding Modules and Transcriptional Repressor Domains. *Nat. Commun.* 3, 968. doi:10.1038/ncomms1962.

Constantin, E. C., Cleenwerck, I., Maes, M., Baeyen, S., Van Malderghem, C., De Vos, P., *et al.* (2016). Genetic characterization of strains named as Xanthomonas axonopodis pv.

dieffenbachiae leads to a taxonomic revision of the X. axonopodis species complex. *Plant Pathol.* 65, 792–806. doi:10.1111/ppa.12461.

Consterton, W. J., and Lewandowski, Z. (1995). Microbial biofilms. *Annu. Rev. Microbiol.* 49, 711–745. doi:10.1201/9780203500224.

Cook, D. E., Mesarich, C. H., and Thomma, B. P. H. J. (2015). Understanding Plant Immunity as a Surveillance System to Detect Invasion. *Annu. Rev. Phytopathol.* 53, 541–563. doi:10.1146/annurev-phyto-080614-120114.

Córdoba, J. M., Chavarro, C., Rojas, F., Muñoz, C., and Blair, M. W. (2010). Identification and Mapping of Simple Sequence Repeat Markers from Common Bean (Phaseolus vulgaris L.) Bacterial Artificial Chromosome End Sequences for Genome Characterization and Genetic–Physical Map Integration. *Plant Genome J.* 3, 154. doi:10.3835/plantgenome2010.06.0013.

Corey, R. R., and Starr, M. P. (1957). Colony Types of Xanthomonas Phaseoli. *J. Bacteriol.* 74, 137–140. doi:10.1128/jb.74.2.137-140.1957.

Coutinho, T. A., van der Westhuizen, L., Roux, J., Mcfarlane, S. A., and Venter, S. N. (2015). Significant host jump of Xanthomonas vasicola from sugarcane to a Eucalyptus grandis clone in South Africa. *Plant Pathol.* 64, 576–581. doi:10.1111/ppa.12298.

Cox, K. L., Meng, F., Wilkins, K. E., Li, F., Wang, P., Booher, N. J., *et al.* (2017). TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. *Nat. Commun.* 24, 15588. doi:10.1038/ncomms15588.

Cuculis, L., Abil, Z., Zhao, H., and Schroeder, C. M. (2015). Direct observation of TALE protein dynamics reveals a two-state search mechanism. *Nat. Commun.* 6, 1–11. doi:10.1038/ncomms8277.

Cuculis, L., Abil, Z., Zhao, H., and Schroeder, C. M. (2016). TALE proteins search DNA using a rotationally decoupled mechanism. *Nat. Chem. Biol.* 12, 831–837. doi:10.1038/nchembio.2152.

Cuculis, L., Zhao, C., Abil, Z., Zhao, H., Shukla, D., and Schroeder, C. M. (2019). Divalent cations promote TALE DNA-binding specificity. *Nucleic Acids Res.* 48, 1406–1422. doi:10.1093/nar/gkz1174.

Cui, F., Wu, S., Sun, W., Coaker, G., Kunkel, B., He, P., *et al.* (2013). The Pseudomonas syringae type III effector AvrRpt2 promotes pathogen virulence via stimulating arabidopsis auxin/indole acetic acid protein turnover. *Plant Physiol.* 162, 1018–1029. doi:10.1104/pp.113.219659.

D'Agostino, I. B., Deruère, J., and Kieber, J. J. (2000). Characterization of the response of the Arabidopsis response regulator gene family to cytokinin. *Plant Physiol.* 124, 1706–1717.

doi:10.1104/pp.124.4.1706.

da Silva, E. G., Moura, A. B., Deuner, C. C., and Farias, D. R. (2008). Estudo de mecanismos de biocontrole do crestamento bacteriano do feijoeiro por bactérias. *Rev. Ceres* 55, 377–383.

Dangl, J. L., Horvath, D. M., and Staskawicz, B. J. (2013). Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science.* 341, 746–751. doi:10.1126/science.1236011.

Darrasse, A., Bureau, C., Samson, R., Morris, C. E., and Jacques, M. A. (2007). Contamination of bean seeds by Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli associated with low bacterial densities in the phyllosphere under field and greenhouse conditions. *Eur. J. Plant Pathol.* 119, 203–215. doi:10.1007/s10658-007-9164-2.

Darrasse, A., Carrère, S., Barbe, V., Boureau, T., Arrieta-Ortiz, M. L., Bonneau, S., *et al.* (2013). Genome sequence of Xanthomonas fuscans subsp. Fuscans strain 4834-R reveals that flagellar motility is not a general feature of xanthomonads. *BMC Genomics* 14. doi:10.1186/1471-2164-14-761.

Darsonval, A., Darrasse, A., Durand, K., Bureau, C., Cesbron, S., and Jacques, M.-A. (2009). Adhesion and Fitness in the Bean Phyllosphere and Transmission to Seed of Xanthomonas fuscans subsp. fuscans . *Mol. Plant-Microbe Interact.* 22, 747–757. doi:10.1094/mpmi-22-6-0747.

Day, B., Dahlbeck, D., Huang, J., Chisholm, S. T., Li, D., and Staskawicz, B. J. (2005). Molecular basis for the RIN4 negative regulation of RPS2 disease resistance. *Plant Cell* 17, 1292–1305. doi:10.1105/tpc.104.030163.

De Feyter, R., and Gabriel, D. W. (1991). At least six avirulence genes are clustered on a 90-kilobase plasmid in Xanthomonas capestris pv. malvacearum. *Mol. Plant Microbe Interact.* 4, 423–432.

De Jonge, R., Van Esse, H. P., Maruthachalam, K., Bolton, M. D., Santhanam, P., Saber, M. K., *et al.* (2012). Tomato immune receptor Ve1 recognizes effector of multiple fungal pathogens uncovered by genome and RNA sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 5110–5115. doi:10.1073/pnas.1119623109.

De Lange, O., Binder, A., and Lahaye, T. (2014). From dead leaf, to new life: TAL effectors as tools for synthetic biology. *Plant J.* 78, 753–771. doi:10.1111/tpj.12431.

De Lange, O., Schreiber, T., Schandry, N., Radeck, J., Braun, K. H., Koszinowski, J., *et al.* (2013). Breaking the DNA-binding code of Ralstonia solanacearum TAL effectors provides new possibilities to generate plant resistance genes against bacterial wilt disease. *New Phytol.* 199, 773–786. doi:10.1111/nph.12324.

De Lange, O., Wolf, C., Thiel, P., Krüger, J., Kleusch, C., Kohlbacher, O., *et al.* (2015). DNA-

binding proteins from marine bacteria expand the known sequence diversity of TALE-like repeats. *Nucleic Acids Res.* 43, 10065–10080. doi:10.1093/nar/gkv1053.

De M. Steckling, S. de M., Ribeiro, N. D., Arns, F. D., Mezzomo, H. C., and Possobom, M. T. D. F. (2017). Genetic diversity and selection of common bean lines based on technological quality and biofortification. *Genet. Mol. Res.* 16. doi:10.4238/gmr16019527.

De Torres-Zabala, M., Truman, W., Bennett, M. H., Lafforgue, G., Mansfield, J. W., Rodriguez Egea, P., *et al.* (2007). Pseudomonas syringae pv. tomato hijacks the Arabidopsis abscisic acid signalling pathway to cause disease. *EMBO J.* 26, 1434–1443. doi:10.1038/sj.emboj.7601575.

Debouck, D. G., Toro, O., Paredes, O. M., Johnson, W. C., and Gepts, P. (1993). Genetic diversity and ecological distribution of Phaseolus vulgaris (Fabaceae) in northwestern South America. *Econ. Bot.* 47, 408–423. doi:10.1007/BF02907356.

Delgado-Salinas, A., Bibler, R., and Lavin, M. (2006). Phylogeny of the genus Phaseolus (Leguminosae): A recent diversification in an ancient landscape. *Syst. Bot.* 31, 779–791. doi:10.1600/036364406779695960.

Denancé, N., Szurek, B., and Noël, L. D. (2014). Emerging functions of nodulin-like proteins in non-nodulating plant species. *Plant Cell Physiol.* 55, 469–474. doi:10.1093/pcp/pct198.

Deng, D., Yan, C., Pan, X., Mahfouz, M., Wang, J., Zhu, J. K., *et al.* (2012a). Structural basis for sequence-specific recognition of DNA by TAL effectors. *Science.* 335, 720–723. doi:10.1126/science.1215670.

Deng, D., Yin, P., Yan, C., Pan, X., Gong, X., Qi, S., *et al.* (2012b). Recognition of methylated DNA by TAL effectors. *Cell Res.* 22, 1502–1504. doi:10.1038/cr.2012.127.

Deng, W., Marshall, N. C., Rowland, J. L., McCoy, J. M., Worrall, L. J., Santos, A. S., *et al.* (2017). Assembly, structure, function and regulation of type III secretion systems. *Nat. Rev. Microbiol.* 15, 323–337. doi:10.1038/nrmicro.2017.20.

Denoux, C., Galletti, R., Mammarella, N., Gopalan, S., Werck, D., De Lorenzo, G., *et al.* (2008). Activation of defense response pathways by OGs and Flg22 elicitors in Arabidopsis seedlings. *Mol. Plant* 1, 423–445. doi:10.1093/mp/ssn019.

Deslandes, L., Olivier, J., Theulières, F., Hirsch, J., Feng, D. X., Bittner-Eddy, P., *et al.* (2002). Resistance to Ralstonia solanacearum in Arabidopsis thaliana is conferred by the recessive RRS1-R gene, a member of a novel family of resistance genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 2404–2409. doi:10.1073/pnas.032485099.

Ding, Y., Sun, T., Ao, K., Peng, Y., Zhang, Y., Li, X., *et al.* (2018). Opposite Roles of Salicylic Acid Receptors NPR1 and NPR3/NPR4 in Transcriptional Regulation of Plant Immunity. *Cell* 173, 1454-1467.e10. doi:10.1016/j.cell.2018.03.044.

Dixon, M. S., Hatzixanthis, K., Jones, D. A., Harrison, K., and Jones, J. D. G. (1998). The tomato Cf-5 disease resistance gene and six homologs show pronounced allelic variation in leucine-rich repeat copy number. *Plant Cell* 10, 1915–1925. doi:10.1105/tpc.10.11.1915.

Dixon, M. S., Jones, D. A., Keddie, J. S., Thomas, C. M., Harrison, K., and Jones, J. D. G. (1996). The tomato Cf-2 disease resistance locus comprises two functional genes encoding leucine-rich repeat proteins. *Cell* 84, 451–459. doi:10.1016/S0092-8674(00)81290-8.

Djian-Caporalino, C., Palloix, A., Fazari, A., Marteu, N., Barbary, A., Abad, P., *et al.* (2014). Pyramiding, alternating or mixing: Comparative performances of deployment strategies of nematode resistance genes to promote plant resistance efficiency and durability. *BMC Plant Biol.* 14, 1–13. doi:10.1186/1471-2229-14-53.

Dodds, P. N., Lawrence, G. J., Catanzariti, A. M., Teh, T., Wang, C. I. A., Ayliffe, M. A., *et al.* (2006). Direct protein interaction underlies gene-for-gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 8888–8893. doi:10.1073/pnas.0602577103.

Dowson, W. J. (1939). On the systematic position and generic names of the Gramnegative bacterial plant pathogens. *Zentralbl. f. Bakt*, 177–193. doi:10.1017/CBO9781107415324.004.

Dowson, W. J. (1943). On the generic names Pseudomonas, Xanthomonas and Bacterium for certain bacterial plant pathogens. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 26, 4–14. doi:10.1016/s0007-1536(43)80003-6.

Doyle, E. L., Booher, N. J., Standage, D. S., Voytas, D. F., Brendel, V. P., Vandyk, J. K., *et al.* (2012). TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT) 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res.* 40, 117–122. doi:10.1093/nar/gks608.

Doyle, E. L., Hummel, A. W., Demorest, Z. L., Starker, C. G., Voytas, D. F., Bradley, P., *et al.* (2013a). TAL effector specificity for base 0 of the DNA target is altered in a complex, effector- and assay-dependent manner by substitutions for the tryptophan in cryptic repeat -1. *PLoS One* 8, 1–17. doi:10.1371/journal.pone.0082120.

Doyle, E. L., Stoddard, B. L., Voytas, D. F., and Bogdanove, A. J. (2013b). TAL effectors: highly adaptable phytobacterial virulence factors and readily engineered DNA targeting proteins. *Trends Cell Biol* 23, 390–398. doi:10.1016/j.pestbp.2011.02.012.Investigations.

Druka, A., Potokina, E., Luo, Z., Jiang, N., Chen, X., Kearsey, M., *et al.* (2010). Expression quantitative trait loci analysis in plants. *Plant Biotechnol. J.* 8, 10–27. doi:10.1111/j.1467-7652.2009.00460.x.

Du, J., Verzaux, E., Chaparro-Garcia, A., Bijsterbosch, G., Keizer, L. C. P., Zhou, J., *et al.* (2015). Elicitin recognition confers enhanced resistance to Phytophthora infestans in potato. *Nat. Plants* 1, 1–5. doi:10.1038/nplants.2015.34.

Duncan, R. W., Singh, S. P., and Gilbertson, R. L. (2011). Interaction of Common Bacterial Blight Bacteria with Disease Resistance Quantitative Trait Loci in Common Bean. *Phytopathology* 101, 425–435. doi:10.1094/PHYTO-03-10-0095.

Dutta, S., Biggs, R. H., and Biggs, R. H. (1991). Regulation of ethylene biosynthesis in citrus leaves infected with Xanthomonas canpestris pv. campestris. *Physiol. Plant.*, 225–231.

Dye, D. W., Bradbury, J. F., Goto, M., Hayward, A. C., Lelliott, R. A., and Schroth, M. N. (1980). International standards for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and a list of pathovar names and pathotype strains. *Rev. Plant Pathol.* 59, 153–159.

EFSA Panel on Plant Health (PLH) (2014). Scientific Opinion on the pest categorisation of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and Xanthomonas fuscans subsp. fuscans. *EFSA J.* 12, 3856. doi:10.2903/j.efsa.2014.3856.

Engler, C., Gruetzner, R., Kandzia, R., and Marillonnet, S. (2009). Golden gate shuffling: A one-pot DNA shuffling method based on type ils restriction enzymes. *PLoS One* 4. doi:10.1371/journal.pone.0005553.

Escalon, A., Javegny, S., Vernière, C., Noël, L. D., Vital, K., Poussier, S., *et al.* (2013). Variations in type III effector repertoires, pathological phenotypes and host range of Xanthomonas citri pv. citri pathotypes. *Mol. Plant Pathol.* 14, 483–496. doi:10.1111/mpp.12019.

Eynck, C., Séguin-Swartz, G., Clarke, W. E., and Parkin, I. A. P. (2012). Monolignol biosynthesis is associated with resistance to Sclerotinia sclerotiorum in Camelina sativa. *Mol. Plant Pathol.* 13, 887–899. doi:10.1111/j.1364-3703.2012.00798.x.

FAO (2018). Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Available at: http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC.

Fatima, U., and Senthil-Kumar, M. (2015). Plant and pathogen nutrient acquisition strategies. *Front. Plant Sci.* 6, 1–12. doi:10.3389/fpls.2015.00750.

Faulkner, C., Petutschnig, E., Benitez-Alfonso, Y., Beck, M., Robatzek, S., Lipka, V., *et al.* (2013). LYM2-dependent chitin perception limits molecular flux via plasmodesmata. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 9166–9170. doi:10.1073/pnas.1203458110.

Felix, G., Duran, J. D., Volko, S., and Boller, T. (1999). Plants have a sensitive perception system for the most conserved domain of bacterial flagellin. *Plant J.* 18, 265–276. doi:10.1046/j.1365-313X.1999.00265.x.

Fernández-Calvo, P., Chini, A., Fernández-Barbero, G., Chico, J. M., Gimenez-Ibanez, S., Geerinck, J., *et al.* (2011). The Arabidopsis bHLH transcription factors MYC3 and MYC4 are targets of JAZ repressors and act additively with MYC2 in the activation of jasmonate responses. *Plant Cell* 23, 701–715. doi:10.1105/tpc.110.080788.

Fernández, V., Guzmán-Delgado, P., Graça, J., Santos, S., and Gil, L. (2016). Cuticle structure in relation to chemical composition: Re-assessing the prevailing model. *Front. Plant Sci.* 7, 1–14. doi:10.3389/fpls.2016.00427.

Ferrari, S., Galletti, R., Denoux, C., De Lorenzo, G., Ausubel, F. M., and Dewdney, J. (2007). Resistance to Botrytis cinerea induced in arabidopsis by elicitors is independent of salicylic acid, ethylene, or jasmonate signaling but requires PHYTOALEXIN DEFICIENT3. *Plant Physiol.* 144, 367–379. doi:10.1104/pp.107.095596.

Ferreira, M. A. S. V., Bonneau, S., Briand, M., Cesbron, S., Portier, P., Darrasse, A., *et al.* (2019). Xanthomonas citri pv. Viticola affecting grapevine in Brazil: Emergence of a successful monomorphic pathogen. *Front. Plant Sci.* 10, 1–18. doi:10.3389/fpls.2019.00489.

Fininsa, C. (1996). Effect of intercropping bean with maize on bean common bacterial blight and rust diseases. *Int. J. Pest Manag.* 42, 51–54. doi:10.1080/09670879609371969.

Fininsa, C. (2003). Relationship between common bacterial blight severity and bean yield loss in pure stand and bean-maize intercropping systems. *Int. J. Pest Manag.* 49, 177–185. doi:10.1080/0967087021000049269.

Fininsa, C., and Tefera, T. (2001). Effect of primary inoculum sources of bean common bacterial blight on early epidemics, seed yield and quality aspects. *Int. J. Pest Manag.* 47, 221–225. doi:10.1080/09670870110044030.

Flor, H. H. (1971). Current status of the gene-for-gene concept. *Annu. Rev. Phytopathol.* 9, 275–296.

Fonsêca, A., Ferreira, J., Dos Santos, T. R. B., Mosiolek, M., Bellucci, E., Kami, J., *et al.* (2010). Cytogenetic map of common bean (Phaseolus vulgaris L.). *Chromosom. Res.* 18, 487–502. doi:10.1007/s10577-010-9129-8.

Foucher, J., Ruh, M., Preveaux, A., Briand, M., Barbazange, F., Bonneau, S., *et al.* Improving common bacterial blight phenotyping by using machine learning : cheaper, better, faster, stronger . *In prep.*

Foucher, J., Ruh, M., Préveaux, A., Carrère, S., Pelletier, S., Briand, M., *et al.* (2020). Common bean resistance to Xanthomonas is associated with upregulation of the salicylic acid pathway and downregulation of photosynthesis. *BMC Genomics* 21, 1–18. doi:10.1186/s12864-020-06972-6.

Fourie, D. (2002). Distribution and severity of bacterial diseases on dry beans (Phaseolus vulgaris L.) in South Africa. *J. Phytopathol.* 150, 220–226. doi:10.1046/j.1439-0434.2002.00745.x.

Foyer, C. H., Lam, H. M., Nguyen, H. T., Siddique, K. H. M., Varshney, R. K., Colmer, T. D.,

et al. (2016). Neglecting legumes has compromised human health and sustainable food production. *Nat. Plants* 2, 16112. doi:10.1038/NPLANTS.2016.112.

Freeman, B. C., and Beattie, G. A. (2008). An Overview of Plant Defenses against Pathogens and Herbivores. *Plant Heal. Instr.* doi:10.1094/phi-i-2008-0226-01.

Freyre, R., Skroch, P. W., Geffroy, V., Adam-Blondon, A. F., Shirmohamadali, A., Johnson, W. C., *et al.* (1998). Towards an integrated linkage map of common bean. 4. Development of a core linkage map and alignment of RFLP maps. *Theor. Appl. Genet.* 97, 847–856. doi:10.1007/s001220050964.

Fu, Q. Z., Yan, S., Saleh, A., Wang, W., Ruble, J., Oka, N., *et al.* (2012). NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. *Nature* 486, 228–232. doi:10.1038/nature11162.

Gabsalilow, L., Schierling, B., Friedhoff, P., Pingoud, A., and Wende, W. (2013). Site-and strand-specific nicking of DNA by fusion proteins derived from MutH and I-SceI or TALE repeats. *Nucleic Acids Res.* 41. doi:10.1093/nar/gkt080.

Gaitán-Solís, E., Choi, I.-Y., Quigley, C., Cregan, P., and Tohme, J. (2008). Single Nucleotide Polymorphisms in Common Bean: Their Discovery and Genotyping Using a Multiplex Detection System. *Plant Genome* 1, 125–134. doi:10.3835/plantgenome2008.04.0204.

Gakuubi, M. M., Wagacha, J. M., Dossaji, S. F., and Wanzala, W. (2016). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Tagetes minuta (Asteraceae) against Selected Plant Pathogenic Bacteria. *Int. J. Microbiol.* 2016. doi:10.1155/2016/7352509.

Garavaglia, B. S., Thomas, L., Gottig, N., Zimaro, T., Garofalo, C. G., Gehring, C., *et al.* (2010). Shedding light on the role of photosynthesis in pathogen colonization and host defense. *Commun. Integr. Biol.* 3, 382–384. doi:10.4161/cib.3.4.12029.

Geiger, F., Bengtsson, J., Berendse, F., Weisser, W. W., Emmerson, M., Morales, M. B., *et al.* (2010). Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. *Basic Appl. Ecol.* 11, 97–105. doi:10.1016/j.baae.2009.12.001.

Geißler, R., Scholze, H., Hahn, S., Streubel, J., Bonas, U., Behrens, S. E., *et al.* (2011). Transcriptional activators of human genes with programmable DNA-specificity. *PLoS One* 6, 1–7. doi:10.1371/journal.pone.0019509.

Gendron, J. M., Liu, J. S., Fan, M., Bai, M. Y., Wenkel, S., Springer, P. S., *et al.* (2012). Brassinosteroids regulate organ boundary formation in the shoot apical meristem of Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 21152–21157. doi:10.1073/pnas.1210799110.

Gent, D. H., Lang, J. M., and Schwartz, H. F. (2005). Epiphytic survival of Xanthomonas axonopodis pv. allii and X. axonopodis pv. phaseoli on leguminous hosts and onion. *Plant Dis.* 89, 558–564. doi:10.1094/PD-89-0558.

Gepts, P. (1999). "Development of an integrated linkage map. Common Bean Improvement in the Twenty- First Century.," in *Developments in Plant Breeding*, ed. S. P. Singh, 53–91.

Gepts, P., and Bliss, F. A. (1985). F1 hybrid weakness in the common bean: Differential geographic origin suggets two gene pools in cultivated bean germplasm. *J. Hered.* 76, 447–450. doi:10.1093/oxfordjournals.jhered.a110142.

Gepts, P., and Bliss, F. A. (1986). Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (Phaseolus vulgaris) from Colombia. *Econ. Bot.* 40, 469–478. doi:10.1007/BF02859660.

Gervasi, F., Ferrante, P., Dettori, M. T., Scortichini, M., and Verde, I. (2018). Transcriptome reprogramming of resistant and susceptible peach genotypes during Xanthomonas arboricola pv. pruni early leaf infection. *PLoS One* 13, 1–21. doi:10.1371/journal.pone.0196590.

Gilbertson, R. L. (1990). Survival of Xanthomonas campestris pv. phaseoli and Pectolytic Strains of X. campestris in Bean Debris. *Plant Dis.* 74, 322. doi:10.1094/pd-74-0322.

Gilbertson, R. L., and Maxwell, D. P. (1992). *Common bacterial blight of bean.* Eds Chaube.

Gilbertson, R. L., Otoya, M., Pastor-Corrales, M. A., and Maxwell, D. P. (1991). Genetic diversity in common blight bacteria is revealed by cloned repetitive DNA. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 34, 37–38.

Gillard, C. L., Conner, R. L., Howard, R. J., Pauls, K. P., Shaw, L., and Taran, B. (2009). The performance of dry bean cultivars with and without common bacterial blight resistance in field studies across Canada. *Can. J. Plant Sci.* 89, 405–410. doi:10.4141/CJPS08045.

Gilliom, R., Barbash, J., Crawford, G., Hamilton, P., Martin, J., Nakagaki, N., *et al.* (2007). *Pesticides in the Nation's Streams and Ground Water , 1992 – 2001*. U.S. Geolo.

Gioia, T., Logozzo, G., Attene, G., Bellucci, E., Benedettelli, S., Negri, V., *et al.* (2013). Evidence for Introduction Bottleneck and Extensive Inter-Gene Pool (Mesoamerica x Andes) Hybridization in the European Common Bean (Phaseolus vulgaris L.) Germplasm. *PLoS One* 8, 1–14. doi:10.1371/journal.pone.0075974.

Giorgio, A., Lo Cantore, P., Shanmugaiah, V., Lamorte, D., and Iacobellis, N. S. (2016). Rhizobacteria isolated from common bean in southern Italy as potential biocontrol agents against common bacterial blight. *Eur. J. Plant Pathol.* 144, 297–309. doi:10.1007/s10658-015-0767-8.

Gómez-Gómez, L., and Boller, T. (2000). FLS2: An LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in Arabidopsis. *Mol. Cell* 5, 1003–1011. doi:10.1016/s1097-2765(00)80265-8.

Goodwin, P. H., and Sopher, C. R. (1994). Water Stress in Leaves of Pbaseolus vulgaris Infected with Xanthomonas campestris pv. phaseoli. *J. Phytopathol.* 140, 219–226. doi:10.1111/j.1439-0434.1994.tb04811.x.

Gout, L., Fudal, I., Kuhn, M. L., Blaise, F., Eckert, M., Cattolico, L., *et al.* (2006). Lost in the middle of nowhere: The AvrLm1 avirulence gene of the Dothideomycete Leptosphaeria maculans. *Mol. Microbiol.* 60, 67–80. doi:10.1111/j.1365-2958.2006.05076.x.

Grant, J. R., Arantes, A. S., and Stothard, P. (2012). Comparing thousands of circular genomes using the CGView Comparison Tool. *BMC Genomics* 13, 1. doi:10.1186/1471-2164-13-202.

Grau, J., Wolf, A., Reschke, M., Bonas, U., Posch, S., and Boch, J. (2013). Computational Predictions Provide Insights into the Biology of TAL Effector Target Sites. *PLoS Comput. Biol.* 9. doi:10.1371/journal.pcbi.1002962.

Grimault, V., Olivier, V., Rolland, M., Darrasse, A., and Jacques, M.-A. (2014). Detection of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli var. fuscans on Phaseolus vulgaris (bean). *Int. Rules Seed Test. Annex. to Chapter 7 Seed Heal. Test. Methods* pp.7-021-1.

Grindley, N. D. F., Whiteson, K. L., and Rice, P. A. (2006). Mechanisms of site-specific recombination. *Annu. Rev. Biochem.* 75, 567–605. doi:10.1146/annurev.biochem.73.011303.073908.

Gu, K., Yang, B., Tian, D., Wu, L., Wang, D., Sreekala, C., *et al.* (2005). R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435, 1122–1125.

Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., and Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* 59, 307–321. doi:10.1093/sysbio/syq010.

Hajri, A., Brin, C., Hunault, G., Lardeux, F., Lemaire, C., Manceau, C., *et al.* (2009). A «repertoire for repertoire» hypothesis: Repertoires of type three effectors are candidate determinants of host specificity in Xanthomonas. *PLoS One* 4. doi:10.1371/journal.pone.0006632.

Han, J., Xia, Z., Liu, P., Li, C., Wang, Y., Guo, L., *et al.* (2020). TALEN-based editing of TFIIAy5 changes rice response to Xanthomonas oryzae pv. Oryzae. *Sci. Rep.* 10, 1–12. doi:10.1038/s41598-020-59052-w.

Hanai, L. R., De Campos, T., Camargo, L. E. A., Benchimol, L. L., De Souza, A. P., Melotto,

M., *et al.* (2007). Development, characterization, and comparative analysis of polymorphism at common bean SSR loci isolated from genic and genomic sources. *Genome* 50, 266–277. doi:10.1139/G07-007.

Hann, D. R., and Rathjen, J. P. (2007). Early events in the pathogenicity of Pseudomonas syringae on Nicotiana benthamiana. *Plant J.* 49, 607–618. doi:10.1111/j.1365-313X.2006.02981.x.

Hauck, P., Thilmony, R., and He, S. Y. (2003). A Pseudomonas syringae type III effector suppresses cell wall-based extracellular defense in susceptible Arabidopsis plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 8577–8582. doi:10.1073/pnas.1431173100.

Hayward, A. C. (1993). The hosts of Xanthomonas. *Xanthomonas*, 1–119. doi:10.1007/978-94-011-1526-1_1.

He, P., Shan, L., Lin, N. C., Martin, G. B., Kemmerling, B., Nürnberger, T., *et al.* (2006). Specific Bacterial Suppressors of MAMP Signaling Upstream of MAPKKK in Arabidopsis Innate Immunity. *Cell* 125, 563–575. doi:10.1016/j.cell.2006.02.047.

He, X.-H., Critchley, C., and Bledsoe, C. (2003). Nitrogen Transfer Within and Between Plants Through Common Mycorrhizal Networks (CMNs). *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 22, 531–567. doi:10.1080/07352680390253520.

He, Y. W., and Zhang, L. H. (2008). Quorum sensing and virulence regulation in Xanthomonas campestris. *FEMS Microbiol. Rev.* 32, 842–857. doi:10.1111/j.1574-6976.2008.00120.x.

Hegenauer, V., Fürst, U., Kaiser, B., Smoker, M., Zipfel, C., Felix, G., *et al.* (2016). Detection of the plant parasite Cuscuta reflexa by a tomato cell surface receptor. *Science.* 353, 478–481. doi:10.1126/science.aaf3919.

Herbers, K., Conrads-Strauch, J., and Bonas, U. (1992). Race-specificity of plant resistance to bacterial spot disease determined by repetitive motifs in a bacterial avirulence protein. *Nature* 356, 172–174. doi:10.1038/356172a0.

Heuer, H., Yin, Y. N., Xue, Q. Y., Smalla, K., and Guo, J. H. (2007). Repeat domain diversity of avrBs3-like genes in ralstonia solanacearum strains and association with host preferences in the field. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 4379–4384. doi:10.1128/AEM.00367-07.

Hibberd, A. M., Bassett, M. J., and Stall, R. E. (1987). Allelism Tests of Three Dominant Genes for Hypersensitive Resistance to Bacterial Spot of Pepper. *Phytopathology* 77, 1304–1307. doi:10.1094/phyto-77-1304.

Hind, S. R., Strickler, S. R., Boyle, P. C., Dunham, D. M., Bao, Z., O'Doherty, I. M., *et al.* (2016). Tomato receptor FLAGELLIN-SENSING 3 binds flgII-28 and activates the plant immune system. *Nat. Plants* 2, 1–8. doi:10.1038/nplants.2016.128.

Hirano, S. S., and Upper, C. D. (1983). Ecology and Epidemiology of Foliar Bacterial Plant Pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 21, 243–270. doi:10.1146/annurev.py.21.090183.001331.

Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T., Gerszberg, A., Glińska, S., and Grzegorczyk-Karolak, I. (2019). Regeneration of Phaseolus vulgaris from epicotyls and hypocotyls via direct organogenesis. *Sci. Rep.* 9, 1–12. doi:10.1038/s41598-019-42723-8.

Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T., Gerszberg, A., Wiktorek-Smagur, A., and Kononowicz, A. K. (2014). Phaseolus vulgaris - Recalcitrant potential. *Biotechnol. Adv.* 32, 1205–1215. doi:10.1016/j.biotechadv.2014.06.001.

Holub, E. B. (2001). The arms race is ancient history in Arabidopsis, the wildflower. *Nat. Rev. Genet.* 2, 516–527. doi:10.1038/35080508.

Hopkins, C. M., White, F. F., Choi, S. H., Guo, A., and Leach, J. E. (1992). Identification of a family of avirulence genes from Xanthomonas oryzae pv. oryzae. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 5, 451–459. doi:10.1094/MPMI-5-451.

Horstman, A., Willemsen, V., Boutilier, K., and Heidstra, R. (2014). AINTEGUMENTA-LIKE proteins: Hubs in a plethora of networks. *Trends Plant Sci.* 19, 146–157. doi:10.1016/j.tplants.2013.10.010.

Hou, S., Liu, Z., Shen, H., and Wu, D. (2019). Damage-associated molecular pattern-triggered immunity in plants. *Front. Plant Sci.* 10. doi:10.3389/fpls.2019.00646.

Hou, S., Wang, X., Chen, D., Yang, X., Wang, M., Turrà, D., *et al.* (2014). The Secreted Peptide PIP1 Amplifies Immunity through Receptor-Like Kinase 7. *PLoS Pathog.* 10. doi:10.1371/journal.ppat.1004331.

Hou, Y., Guo, X., Cyprys, P., Zhang, Y., Bleckmann, A., Cai, L., *et al.* (2016). Maternal ENODLs Are Required for Pollen Tube Reception in Arabidopsis. *Curr. Bioinform.* 26, 2343–2350. doi:10.1016/j.cub.2016.06.053.Maternal.

Hu, Y., Zhang, J., Jia, H., Sosso, D., Li, T., Frommer, W. B., *et al.* (2014). Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, E521–E529. doi:10.1073/pnas.1313271111.

Huang, C. L., Pu, P. H., Huang, H. J., Sung, H. M., Liaw, H. J., Chen, Y. M., *et al.* (2015). Ecological genomics in Xanthomonas: The nature of genetic adaptation with homologous recombination and host shifts. *BMC Genomics* 16, 1–13. doi:10.1186/s12864-015-1369-8.

Huang, R., Hui, S., Zhang, M., Li, P., Xiao, J., Li, X., *et al.* (2017). A Conserved Basal Transcription Factor Is Required for the Function of Diverse TAL Effectors in Multiple Plant Hosts. *Front. Plant Sci.* 8, 1919.

Huang, S., Antony, G., Li, T., Liu, B., Obasa, K., Yang, B., *et al.* (2016). The broadly effective recessive resistance gene xa5 of rice is a virulence effector-dependent quantitative trait for bacterial blight. *Plant J.* 86, 186–194. doi:10.1111/tpj.13164.

Huffaker, A., Pearce, G., and Ryan, C. A. (2006). An endogenous peptide signal in Arabidopsis activates components of the innate immune response. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 10098–10103. doi:10.1073/pnas.0603727103.

Hui, S., Liu, H., Zhang, M., Chen, D., Li, Q., Tian, J., *et al.* (2019a). The host basal transcription factor IIA subunits coordinate for facilitating infection of TALEs-carrying bacterial pathogens in rice. *Plant Sci.* 284, 48–56. doi:10.1016/j.plantsci.2019.04.004.

Hui, S., Shi, Y., Tian, J., Wang, L., Li, Y., Wang, S., *et al.* (2019b). TALE-carrying bacterial pathogens trap host nuclear import receptors for facilitation of infection of rice. *Mol. Plant Pathol.* 20, 519–532. doi:10.1111/mpp.12772.

Hummel, A. W., Doyle, E. L., and Bogdanove, A. J. (2012). Addition of transcription activator-like effector binding sites to a pathogen strain-specific rice bacterial blight resistance gene makes it effective against additional strains and against bacterial leaf streak. *New Phytol.* 195, 883–893.

Humphry, M., Bednarek, P., Kemmerling, B., Koh, S., Stein, M., Göbel, U., *et al.* (2010). A regulon conserved in monocot and dicot plants defines a functional module in antifungal plant immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 21896–21901. doi:10.1073/pnas.1003619107.

Humphry, M., Consonni, C., and Panstruga, R. (2006). mlo-based powdery mildew immunity: Silver bullet or simply non-host resistance? *Mol. Plant Pathol.* 7, 605–610. doi:10.1111/j.1364-3703.2006.00362.x.

Hutin, M., Césari, S., Chalvon, V., Michel, C., Tran, T. T., Boch, J., *et al.* (2016). Ectopic activation of the rice NLR heteropair RGA4/RGA5 confers resistance to bacterial blight and bacterial leaf streak diseases. *Plant J.* 88, 43–55. doi:10.1111/tpj.13231.

Hutin, M., Pérez-Quintero, A. L., Lopez, C., and Szurek, B. (2015a). MorTAL Kombat: the story of defense against TAL effectors through loss-of-susceptibility. *Front. Plant Sci.* 6, 535.

Hutin, M., Sabot, F., Ghesquière, A., Koebnik, R., and Szurek, B. (2015b). A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J.* 84, 694–703. doi:10.1111/tpj.13042.

Hyten, D. L., Song, Q., Fickus, E. W., Quigley, C. V., Lim, J. S., Choi, I. Y., *et al.* (2010). High-throughput SNP discovery and assay development in common bean. *BMC Genomics* 11. doi:10.1186/1471-2164-11-475.

Ilett, M., Wills, J., Rees, P., Sharma, S., Micklethwaite, S., Brown, A., *et al.* (2020). Application of automated electron microscopy imaging and machine learning to characterise and quantify nanoparticle dispersion in aqueous media. *J. Microsc.* 279, 177–184. doi:10.1111/jmi.12853.

Indiana, A. (2016). Rôles du chimiotactisme et de la mobilité flagellaire dans la fitness des Xanthomonas.

Ishida, K., Yamashino, T., and Mizuno, T. (2008). Expression of the cytokinin-induced type-A response regulator gene ARR9 is regulated by the circadian clock in Arabidopsis thaliana. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72, 3025–3029. doi:10.1271/bbb.80402.

Ito, S. ichi, Ihara, T., Tamura, H., Tanaka, S., Ikeda, T., Kajihara, H., *et al.* (2007). α-Tomatine, the major saponin in tomato, induces programmed cell death mediated by reactive oxygen species in the fungal pathogen Fusarium oxysporum. *FEBS Lett.* 581, 3217–3222. doi:10.1016/j.febslet.2007.06.010.

Iyer, A. S., and Mccouch, S. R. (2004). The Rice Bacterial Blight Resistance Gene xa5 Encodes a Novel Form of Disease Resistance. *Mol. plant-microbe Interact.* 17, 1348–1354. doi:10.1094/MPMI.2004.17.12.1348.

Jacques, M.-A., Arlat, M., Boulanger, A., Boureau, T., Carrère, S., Cesbron, S., *et al.* (2016). Using Ecology, Physiology, and Genomics to Understand Host Specificity in *Xanthomonas* : French Network on Xanthomonads (FNX). *Annu. Rev. Phytopathol.* 54, annurev-phyto-080615-100147. doi:10.1146/annurev-phyto-080615-100147.

Jacques, M.-A., Josi, K., Darrasse, A., and Samson, R. (2005). Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli var. fuscans Is Aggregated in Stable Biofilm Population Sizes in the Phyllosphere of Field-Grown Beans. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 2008–2015. doi:10.1128/AEM.71.4.2008.

Jehle, A. K., Lipschis, M., Albert, M., Fallahzadeh-Mamaghani, V., Fürst, U., Mueller, K., *et al.* (2013). The receptor-like protein ReMAX of Arabidopsis detects the microbe-associated molecular pattern eMax from Xanthomonas. *Plant Cell* 25, 2330–2340. doi:10.1105/tpc.113.110833.

Jeworutzki, E., Roelfsema, M. R. G., Anschütz, U., Krol, E., Elzenga, J. T. M., Felix, G., *et al.* (2010). Early signaling through the arabidopsis pattern recognition receptors FLS2 and EFR involves Ca2+-associated opening of plasma membrane anion channels. *Plant J.* 62, 367–378. doi:10.1111/j.1365-313X.2010.04155.x.

Ji, Z., Ji, C., Liu, B., Zou, L., Chen, G., and Yang, B. (2016). Interfering TAL effectors of Xanthomonas oryzae neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat. Commun.* 7, 1–9. doi:10.1038/ncomms13435.

Jia, H., Orbovic, V., Jones, J. B., and Wang, N. (2016). Modification of the PthA4 effector binding elements in Type I CsLOB1 promoter using Cas9/sgRNA to produce transgenic

Duncan grapefruit alleviating XccΔpthA4: DCsLOB1.3 infection. *Plant Biotechnol. J.* 14, 1291–1301. doi:10.1111/pbi.12495.

Jiang, G., Yin, D., Shi, Y., Zhou, Z., Li, C., Liu, P., *et al.* (2020). OsNPR3.3-dependent salicylic acid signaling is involved in recessive gene xa5-mediated immunity to rice bacterial blight. *Sci. Rep.* 10, 1–14. doi:10.1038/s41598-020-63059-8.

Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., and Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science.* 337, 816–821. doi:10.1126/science.1225829.

Johal, G. S., and Briggs, S. P. (1992). Reductase activity encoded by the HM1 disease resistance gene in maize. *Science.* 258, 985–987. doi:10.1126/science.1359642.

Jones, D. A., Thomas, C. M., Hammond-Kosack, K. E., Balint-Kurti, P. J., and Jones, J. D. G. (1994). Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance to Cladosporium fulvum by transposon tagging. *Science.* 266, 789–793. doi:10.1126/science.7973631.

Jones, J. D. G., and Dangl, L. (2006). The plant immune system. *Nature* 444, 323–329. doi:10.1038/nature05286.

Ju, C., Yoon, G. M., Shemansky, J. M., Lin, D. Y., Ying, Z. I., Chang, J., *et al.* (2012). CTR1 phosphorylates the central regulator EIN2 to control ethylene hormone signaling from the ER membrane to the nucleus in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 19486–19491. doi:10.1073/pnas.1214848109.

Juillerat, A., Bertonati, C., Dubois, G., Guyot, V., Thomas, S., Valton, J., *et al.* (2014). BurrH: A new modular DNA binding protein for genome engineering. *Sci. Rep.* 4, 1–6. doi:10.1038/srep03831.

Jung, G., Coyne, D. P., Skroch, P. W., Nienhuis, J., Arnaud-Santana, E., Bokosi, J., *et al.* (1996). Molecular markers associated with plant architecture and resistance to common blight, web blight, and rust in common beans. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 121, 794–803.

Jung, G., Skroch, P. W., Coyne, D. P., Nienhuis, J., Arnaud-Santana, E., Ariyarathne, H. M., *et al.* (1997). Molecular-marker-based genetic analysis of tepary bean-derived common bacterial blight resistance in different developmental stages of common bean. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 122, 329–337. doi:10.21273/jashs.122.3.329.

Jung, G., Skroch, P. W., Nienhuis, J., Coyne, D. P., Arnaud-Santana, E., Ariyarathne, H. M., *et al.* (1999). Confirmation of QTL associated with common bacterial blight resistance in four different genetic backgrounds in common bean. *Crop Sci.* 39, 1448–1455. doi:10.2135/cropsci1999.3951448x.

Júnior, V. A. P., Melo, P. G. S., Pereira, H. S., Bassinello, P. Z., and Melo, L. C. (2015). Genetic potential of common bean progenies selected for crude fiber content obtained through

different breeding methods. *Genet. Mol. Res.* 14, 5763–5774. doi:10.4238/2015.May.29.8.

Jwa, N. S., and Hwang, B. K. (2017). Convergent evolution of pathogen effectors toward reactive oxygen species signaling networks in plants. *Front. Plant Sci.* 8, 1–12. doi:10.3389/fpls.2017.01687.

Kaiser, W. J., and Vakili, N. G. (1978). Insect Transmission of Pathogenic Xanthomonads to Bean and Cowpea in Puerto Rico. *Phytopathology* 68, 1057. doi:10.1094/phyto-68-1057.

Kaku, H., Nishizawa, Y., Ishii-Minami, N., Akimoto-Tomiyama, C., Dohmae, N., Takio, K., *et al.* (2006). Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 11086–11091. doi:10.1073/pnas.0508882103.

Kamatou, G. P. P., Van Zyl, R. L., Van Vuuren, S. F., Viljoen, A. M., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., *et al.* (2006). Chemical composition, leaf trichome types and biological activities of the essential oils of four related Salvia species indigenous to Southern Africa. *J. Essent. Oil Res.* 18, 72–79. doi:10.1080/10412905.2006.12067125.

Kamoun, S. (2006). A catalogue of the effector secretome of plant pathogenic oomycetes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 44, 41–60. doi:10.1146/annurev.phyto.44.070505.143436.

Karavina, C., Mandumbu, R., Parwada, C., and Tibugari, H. (2011). A review of the occurrence, biology and management of common bacterial blight. *J. Agric. Technol.* 7, 1459–1474.

Karlberg, A., Bako, L., and Bhalerao, R. P. (2011). Short day-mediated cessation of growth requires the downregulation of AINTEGUMENTALIKE1 transcription factor in hybrid aspen. *PLoS Genet.* 7. doi:10.1371/journal.pgen.1002361.

Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. I., and Miyata, T. (2002). MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* 30, 3059–3066. doi:10.1093/nar/gkf436.

Kawchuk, L. M., Hachey, J., Lynch, D. R., Kulcsar, F., Van Rooijen, G., Waterer, D. R., *et al.* (2001). Tomato Ve disease resistance genes encode cell surface-like receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 6511–6515. doi:10.1073/pnas.091114198.

Kay, S., Boch, J., and Bonas, U. (2005). Characterization of AvrBs3-Like Effectors from a Brassicaceae Pathogen Reveals Virulence and Avirulence Activities and a Protein with a Novel Repeat Architecture . *Mol. Plant-Microbe Interact.* 18, 838–848. doi:10.1094/mpmi-18-0838.

Kay, S., and Bonas, U. (2009). How Xanthomonas type III effectors manipulate the host plant. *Curr. Opin. Microbiol.* 12, 37–43. doi:10.1016/j.mib.2008.12.006.

Kay, S., Hahn, S., Marois, E., Hause, G., and Bonas, U. (2007). A Bacterial Effector Acts as a

Plant Transcription Factor and Induces a Cell Size Regulator. *Science.* 318, 648–651. doi:10.1126/science.1144956.

Keller, B., Manzanares, C., Jara, C., Lobaton, J. D., Studer, B., and Raatz, B. (2015). Fine-mapping of a major QTL controlling angular leaf spot resistance in common bean (Phaseolus vulgaris L.). *Theor. Appl. Genet.* 128, 813–826. doi:10.1007/s00122-015-2472-6.

Kelly, J. D., Gepts, P., Miklas, P. N., and Coyne, D. P. (2003). Tagging and mapping of genes and QTL and molecular marker-assisted selection for traits of economic importance in bean and cowpea. *F. Crop. Res.* 82, 135–154. doi:10.1016/S0378-4290(03)00034-0.

Kesarwani, M., Yoo, J., and Dong, X. (2007). Genetic Interactions of TGA Transcription Factors in the Regulation of Pathogenesis-Related Genes and Disease Resistance in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 144, 336–346. doi:10.1104/pp.106.095299.

Khan, J. A., Wang, Q., Sjölund, R. D., Schulz, A., and Thompson, G. A. (2007). An early nodulin-like protein accumulates in the sieve element plasma membrane of arabidopsis. *Plant Physiol.* 143, 1576–1589. doi:10.1104/pp.106.092296.

Kieber, J. J., Rothenberg, M., Roman, G., Feldmann, K. A., and Ecker, J. R. (1993). CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in arabidopsis, encodes a member of the Raf family of protein kinases. *Cell* 72, 427–441. doi:10.1016/0092-8674(93)90119-B.

Kim, J. G., Li, X., Roden, J. A., Taylor, K. W., Aakre, C. D., Su, B., *et al.* (2009). Xanthomonas T3S effector XopN suppresses PAMP-triggered immunity and interacts with a tomato atypical receptor-like kinase and TFT1. *Plant Cell* 21, 1305–1323. doi:10.1105/tpc.108.063123.

Kim, S.-S., and Hartmann, R. W. (1985). Inheritance of a gene (Bs3) conferring hypersensitive resistance to Xanthomonas campestris pv. vesicatoria in pepper (Capsicum annuum). *Plant Dis.* 69, 233–235.

Kingsley, M. T., Gabriel, D. W., Marlow, G. C., and Roberts, P. D. (1993). The opsX locus of Xanthomonas campestris affects host range and biosynthesis of lipopolysaccharide and extracellular polysaccharide. *J. Bacteriol.* 175, 5839–5850. doi:10.1128/jb.175.18.5839-5850.1993.

Kloppholz, S., Kuhn, H., and Requena, N. (2011). A secreted fungal effector of glomus intraradices promotes symbiotic biotrophy. *Curr. Biol.* 21, 1204–1209. doi:10.1016/j.cub.2011.06.044.

Knoop, V., Staskawicz, B., and Bonas, U. (1991). Expression of the avirulence gene avrBs3 from Xanthomonas campestris pv. vesicatoria is not under the control of hrp genes and is independent of plant factors. *J. Bacteriol.* 173, 7142–7150. doi:10.1128/jb.173.22.7142-7150.1991.

Kohorn, B. D., Johansen, S., Shishido, A., Todorova, T., Martinez, R., Defeo, E., *et al.* (2009). Pectin activation of MAP kinase and gene expression is WAK2 dependent. *Plant J.* 60, 974–982. doi:10.1111/j.1365-313X.2009.04016.x.

Koinange, E. K., and Gepts, P. (1992). Hybrid Weakness in wild Phaseolus vulgaris L. *J. Hered.* 83, 135–139.

Koskiniemi, S., Sun, S., Berg, O. G., and Andersson, D. I. (2012). Selection-driven gene loss in bacteria. *PLoS Genet.* 8, 1–7. doi:10.1371/journal.pgen.1002787.

Kourelis, J., and Van Der Hoorn, R. A. L. (2018). Defended to the nines: 25 years of resistance gene cloning identifies nine mechanisms for R protein function. *Plant Cell* 30, 285–299. doi:10.1105/tpc.17.00579.

Krasileva, K. V., Dahlbeck, D., and Staskawicz, B. J. (2010). Activation of an Arabidopsis resistance protein is specified by the in planta association of its leucine-rich repeat domain with the cognate oomycete effector. *Plant Cell* 22, 2444–2458. doi:10.1105/tpc.110.075358.

Kremer, F. S., Guimarées, A. M., Sanchez, C. D., and Da Silva Pinto, L. (2019). TargeTALE: A web resource to identify TALEs in xanthomonas genomes and their respective targets. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 32, 1577–1580. doi:10.1094/MPMI-08-19-0227-A.

Kroj, T., Chanclud, E., Michel-Romiti, C., Grand, X., and Morel, J. B. (2016). Integration of decoy domains derived from protein targets of pathogen effectors into plant immune receptors is widespread. *New Phytol.* 210, 618–626. doi:10.1111/nph.13869.

Kumar, A., Kumar, R., Sengupta, D., Das, S. N., Pandey, M. K., Bohra, A., *et al.* (2020). Deployment of Genetic and Genomic Tools Toward Gaining a Better Understanding of Rice-Xanthomonas oryzae pv . oryzae Interactions for Deployment of Genetic and Genomic Tools Toward Gaining a Better Understanding of Rice- Xanthomonas oryzae pv . oryzae Int. *Front. Plant Sci.* doi:10.3389/fpls.2020.01152.

Kungulovski, G., and Jeltsch, A. (2016). Epigenome Editing: State of the Art, Concepts, and Perspectives. *Trends Genet.* 32, 101–113. doi:10.1016/j.tig.2015.12.001.

Kunze, G., Zipfel, C., Robatzek, S., Niehaus, K., Boller, T., and Felix, G. (2004). The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in Arabidopsis plants. *Plant Cell* 16, 3496–3507. doi:10.1105/tpc.104.026765.

Lamichhane, J. R., Fabi, A., and Varvaro, L. (2012). Severe Outbreak of Bacterial Blight Caused by Xanthomonas arboricola pv. corylina on Hazelnut cv. Tonda di Giffoni in Central Italy. *Plant Dis.* 96, 3–4. doi:10.1094/PDIS-04-12-0375-PDN.

Landry, D., González-Fuente, M., Deslandes, L., and Peeters, N. (2020). The large, diverse, and robust arsenal of Ralstonia solanacearum type III effectors and their in planta

functions. *Mol. Plant Pathol.*, 1–12. doi:10.1111/mpp.12977.

Larkan, N. J., Lydiate, D. J., Parkin, I. A. P., Nelson, M. N., Epp, D. J., Cowling, W. A., *et al.* (2013). The Brassica napus blackleg resistance gene LepR3 encodes a receptor-like protein triggered by the Leptosphaeria maculans effector AVRLM1. *New Phytol.* 197, 595–605. doi:10.1111/nph.12043.

Larkan, N. J., Ma, L., and Borhan, M. H. (2015). The Brassica napus receptor-like protein RLM2 is encoded by a second allele of the LepR3/Rlm2 blackleg resistance locus. *Plant Biotechnol. J.* 13, 983–992. doi:10.1111/pbi.12341.

Łaźniewska, J., Macioszek, V. K., and Kononowicz, A. K. (2012). Plant-fungus interface: The role of surface structures in plant resistance and susceptibility to pathogenic fungi. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 78, 24–30. doi:10.1016/j.pmpp.2012.01.004.

Le Thanh, T., Thumanu, K., Wongkaew, S., Boonkerd, N., Teaumroong, N., Phansak, P., *et al.* (2017). Salicylic acid-induced accumulation of biochemical components associated with resistance against Xanthomonas oryzae pv. Oryzae in rice. *J. Plant Interact.* 12, 108–120. doi:10.1080/17429145.2017.1291859.

Lee, D. H., Bourdais, G., Yu, G., Robatzek, S., and Coaker, G. (2015). Phosphorylation of the plant immune regulator RPM1-INTERACTING PROTEIN4 enhances plant plasma membrane h+-ATPase activity and inhibits flagellin-triggered immune responses in arabidopsis. *Plant Cell* 27, 2042–2056. doi:10.1105/tpc.114.132308.

Lee, H. A., Lee, H. Y., Seo, E., Lee, J., Kim, S. B., Oh, S., *et al.* (2017). Current understandings of plant nonhost resistance. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 30, 5–15. doi:10.1094/MPMI-10-16-0213-CR.

Lewis, J. D., Lee, A. H. Y., Hassan, J. A., Wana, J., Hurleya, B., Jhingree, J. R., *et al.* (2013). The Arabidopsis ZED1 pseudokinase is required for ZAR1-mediated immunity induced by the Pseudomonas syringae type III effector HopZ1a. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 18722–18727. doi:10.1073/pnas.1315520110.

Li, F., Cheng, C., Cui, F., de Oliveira, M. V. V, Yu, X., Meng, X., *et al.* (2014a). Modulation of RNA polymerase II phosphorylation downstream of pathogen perception orchestrates plant immunity. *Cell Host Microbe* 16, 748–758. doi:10.1016/j.chom.2014.10.018.Modulation.

Li, L., Atef, A., Piatek, A., Ali, Z., Piatek, M., Aouida, M., *et al.* (2013). Characterization and DNA-binding specificities of Ralstonia TAL-like effectors. *Mol. Plant* 6, 1318–1330. doi:10.1093/mp/sst006.

Li, Q., Zheng, J., Li, S., Huang, G., Skilling, S. J., Wang, L., *et al.* (2017). Transporter-Mediated Nuclear Entry of Jasmonoyl-Isoleucine Is Essential for Jasmonate Signaling. *Mol. Plant* 10, 695–708. doi:10.1016/j.molp.2017.01.010.

Li, T., Huang, S., Jiang, W. Z., Wright, D., Spalding, M. H., Weeks, D. P., *et al.* (2011a). TAL nucleases (TALNs): Hybrid proteins composed of TAL effectors and FokI DNA-cleavage domain. *Nucleic Acids Res.* 39, 359–372. doi:10.1093/nar/gkq704.

Li, T., Huang, S., Zhao, X., Wright, D. A., Carpenter, S., Spalding, M. H., *et al.* (2011b). Modularly assembled designer TAL effector nucleases for targeted gene knockout and gene replacement in eukaryotes. *Nucleic Acids Res.* 39, 6315–6325. doi:10.1093/nar/gkr188.

Li, T., Liu, B., Spalding, M. H., Weeks, D. P., and Yang, B. (2012). High-efficiency TALEN-based gene editing produces disease-resistant rice. *Nat. Biotechnol.* 30, 390–392. doi:10.1038/nbt.2199.

Li, Z., Zou, L., Ye, G., Xiong, L., Ji, Z., Zakria, M., *et al.* (2014b). A potential disease susceptibility gene CsLOB of citrus is targeted by a major virulence effector PthA of xanthomonas citri subsp. citri. *Mol. Plant* 7, 912–915. doi:10.1093/mp/sst176.

Lim, M. T. S., and Kunkel, B. N. (2004). The Pseudomonas syringae type III effector AvrRpt2 promotes virulence independently of RIN4, a predicted virulence target in Arabidopsis thaliana. *Plant J.* 40, 790–798. doi:10.1111/j.1365-313X.2004.02251.x.

Lin, S., Zhao, Y., Zhu, Y., Gosney, M., Deng, X., Wang, X., *et al.* (2016). An Effective and Inducible System of TAL Effector-Mediated Transcriptional Repression in Arabidopsis. *Mol. Plant* 9, 1546–1549. doi:10.1016/j.molp.2016.09.003.

Liu, B., Li, J. F., Ao, Y., Qu, J., Li, Z., Su, J., *et al.* (2012). Lysin motif-containing proteins LYP4 and LYP6 play dual roles in peptidoglycan and chitin perception in rice innate immunity. *Plant Cell* 24, 3406–3419. doi:10.1105/tpc.112.102475.

Liu, L., Zhang, Y., Liu, M., Wei, W., Yi, C., and Peng, J. (2020). Structural Insights into the Specific Recognition of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine by TAL Effectors. *J. Mol. Biol.* 432, 1035–1047. doi:10.1016/j.jmb.2019.11.023.

Liu, Q., Yuan, M., Zhou, Y., Li, X., Xiao, J., and Wang, S. (2011). A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to Xanthomonas oryzae in rice. *Plant, Cell Environ.* 34, 1958–1969. doi:10.1111/j.1365-3040.2011.02391.x.

Liu, S., Yu, K., and Park, S. J. (2008). Development of STS markers and QTL validation for common bacterial blight resistance in common bean. *Plant Breed.* 127, 62–68. doi:10.1111/j.1439-0523.2007.01423.x.

Liu, X., Grabherr, H. M., Willmann, R., Kolb, D., Brunner, F., Bertsche, U., *et al.* (2014). Host-induced bacterial cell wall decomposition mediates pattern-triggered immunity in Arabidopsis. *Elife* 3, 1–24. doi:10.7554/elife.01990.

Liu, Y., and He, C. (2017). A review of redox signaling and the control of MAP kinase pathway

in plants. *Redox Biol.* 11, 192–204. doi:10.1016/j.redox.2016.12.009.

Liu, Y., Ren, D., Pike, S., Pallardy, S., Gassmann, W., and Zhang, S. (2007). Chloroplast-generated reactive oxygen species are involved in hypersensitive response-like cell death mediated by a mitogen-activated protein kinase cascade. *Plant J.* 51, 941–954. doi:10.1111/j.1365-313X.2007.03191.x.

Liu, Z., Yan, J. P., Li, D. K., Luo, Q., Yan, Q., Liu, Z. Bin, *et al.* (2015). UDP-glucosyltransferase71C5, a major glucosyltransferase, mediates abscisic acid homeostasis in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 167, 1659–1670. doi:10.1104/pp.15.00053.

Lo Cantore, P., Vellasamy, S., and Nicola, S. I. (2009). Antibacterial activity of essential oil components and their potential use in seed disinfection. *J. Agric. Food Chem.* 57, 9454–9461. doi:10.1021/jf902333g.

Lo Presti, L., and Kahmann, R. (2017). How filamentous plant pathogen effectors are translocated to host cells. *Curr. Opin. Plant Biol.* 38, 19–24. doi:10.1016/j.pbi.2017.04.005.

Lori, M., Van Verk, M. C., Hander, T., Schatowitz, H., Klauser, D., Flury, P., *et al.* (2015). Evolutionary divergence of the plant elicitor peptides (Peps) and their receptors: Interfamily incompatibility of perception but compatibility of downstream signalling. *J. Exp. Bot.* 66, 5315–5325. doi:10.1093/jxb/erv236.

Louws, F. J., Wilson, M., Campbell, H. L., Cuppels, D. A., Jones, J. B., Shoemaker, P. B., *et al.* (2001). Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. *Plant Dis.* 85, 481–488. doi:10.1094/PDIS.2001.85.5.481.

Love, M. I., Huber, W., and Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 15, 550. doi:10.1186/s13059-014-0550-8.

Luderer, R., Rivas, S., Nürnberger, T., Mattei, B., Van den Hooven, H. W., Van der Hoorn, R. A. L., *et al.* (2001). No evidence for binding between resistance gene product Cf-9 of tomato and avirulence gene product AVR9 of Cladosporium fulvum. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 14, 867–876. doi:10.1094/MPMI.2001.14.7.867.

Luna, E., Pastor, V., Robert, J., Flors, V., Mauch-Mani, B., and Ton, J. (2011). Callose deposition: A multifaceted plant defense response. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 24, 183–193. doi:10.1094/MPMI-07-10-0149.

Lund, S. T., Stall, R. E., and Klee, H. J. (1998). Ethylene Regulates the Susceptible Response to Pathogen Infection in Tomato. *Am. Soc. Plant Physiol. Ethyl.* 10, 371–382. doi:10.1105/tpc.10.3.371.

Luo, Y., Sangha, J. S., Wang, S., Li, Z., Yang, J., and Yin, Z. (2012). Marker-assisted breeding

of Xa4, Xa21 and Xa27 in the restorer lines of hybrid rice for broad-spectrum and enhanced disease resistance to bacterial blight. *Mol. Breed.* 30, 1601–1610. doi:10.1007/s11032-012-9742-7.

Ma, L., Wang, Q., Yuan, M., Zou, T., Yin, P., and Wang, S. (2018a). Xanthomonas TAL effectors hijack host basal transcription factor IIA α and γ subunits for invasion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 496, 608–613. doi:10.1016/j.bbrc.2018.01.059.

Ma, W., Zou, L., Zhiyuan, J. I., Xiameng, X. U., Zhengyin, X. U., Yang, Y., *et al.* (2018b). Xanthomonas oryzae pv. oryzae TALE proteins recruit OsTFIIAγ1 to compensate for the absence of OsTFIIAγ5 in bacterial blight in rice. *Mol. Plant Pathol.* 19, 2248–2262. doi:10.1111/mpp.12696.

Ma, Y., and Bliss, F. A. (1978). Seed Proteins of Common Bean. *Crop Sci.* 17, 431–437.

Mabagala, R. B. (1997). The effect of populations of Xanthomonas campestris pv. phaseoli in bean reproductive tissues on seed infection of resistant and susceptible bean genotypes. *Eur. J. Plant Pathol.* 103, 175–181. doi:10.1023/A:1008602223426.

Macho, A. P. (2015). Subversion of plant cellular functions by bacterial type-III effectors: Beyond suppression of immunity. *New Phytol.* 210, 51–57. doi:10.1111/nph.13605.

Macho, A. P., and Zipfel, C. (2014). Plant PRRs and the activation of innate immune signaling. *Mol. Cell* 54, 263–272. doi:10.1016/j.molcel.2014.03.028.

Mackey, D., Holt, B. F., Wiig, A., and Dangl, J. L. (2002). RIN4 interacts with Pseudomonas syringae type III effector molecules and is required for RPM1-mediated resistance in Arabidopsis. *Cell* 108, 743–754. doi:10.1016/S0092-8674(02)00661-X.

Maeder, M. L., Angstman, J. F., Richardson, M. E., Samantha, J., Cascio, V. M., Tsai, S. Q., *et al.* (2014). Targeted DNA Demethylation and Endogenous Gene Activation Using Programmable TALE-TET1 Fusions. *Nat. Biotechnol.* 31, 1–15. doi:10.1038/nbt.2726.

Mahfouz, M. M., Li, L., Piatek, M., Fang, X., Mansour, H., Bangarusamy, D. K., *et al.* (2012). Targeted transcriptional repression using a chimeric TALE-SRDX repressor protein. *Plant Mol. Biol.* 78, 311–321. doi:10.1007/s11103-011-9866-x.

Mahfouz, M. M., Li, L., Shamimuzzaman, M., Wibowo, A., Fang, X., and Zhu, J. K. (2011). De novo-engineered transcription activator-like effector (TALE) hybrid nuclease with novel DNA binding specificity creates double-strand breaks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 2623–2628. doi:10.1073/pnas.1019533108.

Mahlein, A.-K. (2016). Present and Future Trends in Plant Disease Detection. *Plant Dis.* 100, 1–11. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2.

Mahuku, G. S., Jara, C., Henriquez, M. A., Castellanos, G., and Cuasquer, J. (2006). Genotypic

characterization of the common bean bacterial blight pathogens, Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli var. fuscans by rep-PCR and PCR-RFLP of the ribosomal genes. *J. Phytopathol.* 154, 35–44. doi:10.1111/j.1439-0434.2005.01057.x.

Majer, C., and Hochholdinger, F. (2011). Defining the boundaries: Structure and function of LOB domain proteins. *Trends Plant Sci.* 16, 47–52. doi:10.1016/j.tplants.2010.09.009.

Mak, A. N., Bradley, P., Cernadas, R. a, Bogdanove, A. J., and Stoddard, B. L. (2012). The crystal structure of TAL effector PthXo1 bound to its DNA target. *Science.* 335, 716–719.

Mamidi, S., Rossi, M., Moghaddam, S. M., Annam, D., Lee, R., Papa, R., *et al.* (2013). Demographic factors shaped diversity in the two gene pools of wild common bean Phaseolus vulgaris L. *Heredity (Edinb).* 110, 267–276. doi:10.1038/hdy.2012.82.

Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., *et al.* (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13, 614–629. doi:10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x.

Mansfield, J. W. (2009). From bacterial avirulence genes to effector functions via the hrp delivery system: An overview of 25 years of progress in our understanding of plant innate immunity. *Mol. Plant Pathol.* 10, 721–734. doi:10.1111/j.1364-3703.2009.00576.x.

Mao, G., Meng, X., Liu, Y., Zheng, Z., Chen, Z., and Zhang, S. (2011). Phosphorylation of a WRKY transcription factor by two pathogen-responsive MAPKs drives phytoalexin biosynthesis in Arabidopsis. *Plant Cell* 23, 1639–1653. doi:10.1105/tpc.111.084996.

Marois, E., Van Den Ackerveken, G., and Bonas, U. (2002). The Xanthomonas type III effector protein AvrBs3 modulates plant gene expression and induces cell hypertrophy in the susceptible host. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 15, 637–646. doi:10.1094/MPMI.2002.15.7.637.

Martinez, C., Baccou, J. C., Bresson, E., Baissac, Y., Daniel, J. F., Jalloul, A., *et al.* (2000). Salicylic acid mediated by the oxidative burst is a key molecule in local and systemic responses of cotton challenged by an avirulent race of Xanthomonas campestris pv malvacearum. *Plant Physiol.* 122, 757–766. doi:10.1104/pp.122.3.757.

Masson-Boivin, C., Giraud, E., Perret, X., and Batut, J. (2009). Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes? *Trends Microbiol.* 17, 458–466. doi:10.1016/j.tim.2009.07.004.

Maude, R. (1996). *Seedborne diseases and their control Principles & Practice*. CAB Intern.

Meckler, J. F., Bhakta, M. S., Kim, M. S., Ovadia, R., Habrian, C. H., Zykovich, A., *et al.* (2013). Quantitative analysis of TALE-DNA interactions suggests polarity effects. *Nucleic Acids Res.* 41, 4118–4128. doi:10.1093/nar/gkt085.

Mejía-Jiménez, A., Muñoz, C., Jacobsen, H. J., Roca, W. M., and Singh, S. P. (1994). Interspecific hybridization between common and tepary beans: increased hybrid embryo growth, fertility, and efficiency of hybridization through recurrent and congruity backcrossing. *Theor. Appl. Genet.* 88, 324–331. doi:10.1007/BF00223640.

Méline, V., Brin, C., Lebreton, G., Ledroit, L., Sochard, D., Hunault, G., *et al.* (2020). A Computation Method Based on the Combination of Chlorophyll Fluorescence Parameters to Improve the Discrimination of Visually Similar Phenotypes Induced by Bacterial Virulence Factors. *Front. Plant Sci.* 11, 1–14. doi:10.3389/fpls.2020.00213.

Melotto, M., Underwood, W., and He, S. Y. (2008). Role of Stomata in Plant Innate Immunity and Foliar Bacterial Diseases. *Annu Rev Phytopathol* 46, 101–122. doi:101–122. doi:10.1146/annurev.phyto.121107.104959.

Melotto, M., Underwood, W., Koczan, J., Nomura, K., and He, S. Y. (2006). Plant Stomata Function in Innate Immunity against Bacterial Invasion. *Cell* 126, 969–980. doi:10.1016/j.cell.2006.06.054.

Mendenhall, E. M., Williamson, K. E., Reyon, D., Zou, J. Y., Ram, O., Joung, J. K., *et al.* (2013). Locus-specific editing of histone modifications at endogenous enhancers using programmable TALE-LSD1 fusions. *Nat. Biotechnol.* 31, 1133–1136. doi:10.1038/nbt.2701.

Meng, X., and Zhang, S. (2013). MAPK cascades in plant disease resistance signaling. *Annu. Rev. Phytopathol.* 51, 245–266. doi:10.1146/annurev-phyto-082712-102314.

Mercer, A. C., Gaj, T., Fuller, R. P., and Barbas, C. F. (2012). Chimeric TALE recombinases with programmable DNA sequence specificity. *Nucleic Acids Res.* 40, 11163–11172. doi:10.1093/nar/gks875.

Merda, D., Bonneau, S., Guimbaud, J. F., Durand, K., Brin, C., Boureau, T., *et al.* (2016). Recombination-prone bacterial strains form a reservoir from which epidemic clones emerge in agroecosystems. *Environ. Microbiol. Rep.* 8, 572–581. doi:10.1111/1758-2229.12397.

Mhedbi-Hajri, N., Darrasse, A., Pigné, S., Durand, K., Fouteau, S., Barbe, V., *et al.* (2011). Sensing and adhesion are adaptive functions in the plant pathogenic xanthomonads. *BMC Evol. Biol.* 11. doi:10.1186/1471-2148-11-67.

Midha, S., and Patil, P. B. (2014). Genomic insights into the evolutionary origin of Xanthomonas axonopodis pv. citri and its ecological relatives. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 6266–6279. doi:10.1128/AEM.01654-14.

Miklas, P. N., Beaver, J. S., Grafton, K. F., and Freytag, G. F. (1994). Registration of TARS VCI-4B Multiple Disease Resistant Dry Bean Germplasm. *Crop Sci.* 34, 1415–1415. doi:10.2135/cropsci1994.0011183x003400050065x.

Miklas, P. N., Coyne, D. P., Grafton, K. F., Mutlu, N., Reiser, J., Lindgren, D. T., *et al.* (2003). A major QTL for common bacterial blight resistance derives from the common bean great northern landrace cultivar Montana No. 5. *Euphytica* 131, 137–146. doi:10.1023/A:1023064814531.

Miklas, P. N., Delorme, R., Stone, V., Daly, M. J., Stavely, J. R., Steadman, J. R., *et al.* (2000a). Bacterial, fungal, and viral disease resistance loci mapped in a recombinant inbred common bean population ('Dorado'/XAN 176). *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 125, 476–481. doi:10.21273/jashs.125.4.476.

Miklas, P. N., Johnson, E., Stone, V., Beaver, J. S., Montoya, C., and Zapata, M. (1996). Selective mapping of QTL conditioning disease resistance in common bean. *Crop Sci.* 36, 1344–1351. doi:10.2135/cropsci1996.0011183X003600050044x.

Miklas, P. N., Kelly, J. D., Beebe, S. E., and Blair, M. W. (2006). Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. *Euphytica* 147, 105–131. doi:10.1007/s10681-006-4600-5.

Miklas, P. N., Smith, R., Grafton, R. K. F., Singh, S. P., Jung, G., and Coyne, D. P. (2000b). Marker-assisted for pyramided resistance to common bacterial blight in common bean. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 43, 39–40.

Miklas, P. N., Zapata, M., Beaver, J. S., and Grafton, K. F. (1999). Registration of Four Dry Bean Germplasms Resistant to Common Bacterial Blight: ICB-3, ICB-6, ICB-8, and ICB-10. *Crop Sci.* 39, 594–594. doi:10.2135/cropsci1999.0011183x003900020065x.

Miller, J. C., Tan, S., Qiao, G., Barlow, K. A., Wang, J., Xia, D. F., *et al.* (2011). A TALE nuclease architecture for efficient genome editing. *Nat. Biotechnol.* 29, 143–150. doi:10.1038/nbt.1755.

Mily Ron and Adi Avni (2004). The Receptor for the Fungal Elicitor Ethylene-Inducing. *Plant Cell* 56, 119–129. doi:10.1105/tpc.022475.The.

Minsavage, G. V., Dahlbeck, D., Whalen, M. C., Kearney, B., Bonas, U., Staskawicz, B. J., *et al.* (1990). Gene-For-Gene Relationships Specifying Disease Resistance in Xanthomonas campestris pv. vesicatoria - Pepper Interactions. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 3, 41–47. doi:10.1094/mpmi-3-041.

Mirik, M., Aysan, Y., and Cinar, O. (2007a). Copper-resistant strains of Xanthomonas axonopodis pv. vesicatoria (doidge) dye in the eastern mediterranean region of Turkey. *J. Plant Pathol.* 89, 153–154. doi:10.4454/jpp.v89i1.737.

Mirik, M., Selcuk, F., Aysan, Y., and Sahin, F. (2007b). First Outbreak of Bacterial Black Rot on Cabbage, Broccoli, and Brussels Sprouts Caused by Xanthomonas campestris pv. campestris in the Mediterranean Region of Turkey. *Plant Dis.* 92, 176–176. doi:10.1094/pdis-92-1-0176c.

Mishina, T. E., and Zeier, J. (2007). Pathogen-associated molecular pattern recognition rather than development of tissue necrosis contributes to bacterial induction of systemic acquired resistance in Arabidopsis. *Plant J.* 50, 500–513. doi:10.1111/j.1365-313X.2007.03067.x.

Mitchum, M. G., Hussey, R. S., Baum, T. J., Wang, X., Elling, A. A., Wubben, M., *et al.* (2013). Nematode effector proteins: An emerging paradigm of parasitism. *New Phytol.* 199, 879–894. doi:10.1111/nph.12323.

Miya, A., Albert, P., Shinya, T., Desaki, Y., Ichimura, K., Shirasu, K., *et al.* (2007). CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 19613–19618. doi:10.1073/pnas.0705147104.

Miyanari, Y., Ziegler-Birling, C., and Torres-Padilla, M. E. (2013). Live visualization of chromatin dynamics with fluorescent TALEs. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 20, 1321–1324. doi:10.1038/nsmb.2680.

Mkandawire, A. B. C., Mabagala, R. B., Guzmán, P., Gepts, P., and Gilbertson, R. L. (2004). Genetic diversity and pathogenic variation of common blight bacteria (Xanthomonas campestris pv. phaseoli and X. campestris pv. phaseoli var. fuscans) suggests pathogen coevolution with the common bean. *Phytopathology* 94, 593–603. doi:10.1094/PHYTO.2004.94.6.593.

Moore, R., Chandrahas, A., and Bleris, L. (2014). Transcription activator-like effectors: A toolkit for synthetic biology. *ACS Synth. Biol.* 3, 708–716. doi:10.1021/sb400137b.

Mora, Y., Díaz, R., Vargas-Lagunas, C., Peralta, H., Guerrero, G., Aguilar, A., *et al.* (2014). Nitrogen-fixing rhizobial strains isolated from common bean seeds: Phylogeny, physiology, and genome analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 5644–5654. doi:10.1128/AEM.01491-14.

Morbitzer, R., Elsaesser, J., Hausner, J., and Lahaye, T. (2011). Assembly of custom TALE-type DNA binding domains by modular cloning. *Nucleic Acids Res.* 39, 5790–5799. doi:10.1093/nar/gkr151.

Morbitzer, R., Römer, P., Boch, J., and Lahaye, T. (2010). Regulation of selected genome loci using de novo-engineered transcription activator-like effector (TALE)-type transcription factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 21617–21622. doi:10.1073/pnas.1013133107.

Morris, C. E., and Monier, J.-M. (2003). The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41, 429–453. doi:10.1146/annurev.phyto.41.022103.134521.

Moscou, M., and Bogdanove, A. (2009). A Simple Cipher Governs DNA Recognition by TAL Effectors. *Science.* 326, 1501.

Mott, G. A., Thakur, S., Smakowska, E., Wang, P. W., Belkhadir, Y., Desveaux, D., *et al.*

(2016). Genomic screens identify a new phytobacterial microbe-associated molecular pattern and the cognate Arabidopsis receptor-like kinase that mediates its immune elicitation. *Genome Biol.* 17, 1–15. doi:10.1186/s13059-016-0955-7.

Mukankusi, C., Raatz, B., Nkalubo, S., Berhanu, F., Binagwa, P., Kilango, M., *et al.* (2018). Genomics, genetics and breeding of common bean in Africa: A review of tropical legume project. *Plant Breed.* 138, 401–414. doi:10.1111/pbr.12573.

Mukeshimana, G., Butare, L., Cregan, P. B., Blair, M. W., and Kelly, J. D. (2014). Quantitative trait loci associated with drought tolerance in common bean. *Crop Sci.* 54, 923–938. doi:10.2135/cropsci2013.06.0427.

Mukhtar, M. S., Carvunis, A., Dreze, M., Epple, P., Steinbrenner, J., Moore, J., *et al.* (2011). Independently Evolved Virulence Effectors Converge onto Hubs in a Plant Immune System Network. *Science.* 333, 596–601. doi:10.1126/science.1203659.

Mundt, C. C. (2014). Durable resistance: A key to sustainable management of pathogens and pests. *Infect Genet Evol.* October, 446–455. doi:10.1016/j.meegid.2014.01.011.Durable.

Muñoz-Bodnar, A., Perez-Quintero, A. L., Gomez-Cano, F., Gil, J., Michelmore, R., Bernal, A., *et al.* (2014). RNAseq analysis of cassava reveals similar plant responses upon infection with pathogenic and non-pathogenic strains of Xanthomonas axonopodis pv. manihotis. *Plant Cell Rep.* 33, 1901–1912. doi:10.1007/s00299-014-1667-7.

Murakami, M. T., Sforça, M. L., Neves, J. L., Paiva, J. H., Domingues, M. N., Pereira, A. L. A., *et al.* (2010). The repeat domain of the type III effector protein PthA shows a TPR-like structure and undergoes conformational changes upon DNA interaction. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* 78, 3386–3395. doi:10.1002/prot.22846.

Mutlu, N., Milkas, P., Reiser, J., and Coyne, D. (2005). Backcross breeding for improved resistance to common bacterial blight in pinto bean { Phaseolus vulgaris L .). *Plant Breed.* 124, 282–287. doi:10.1111/j.1439-0523.2005.01078.x.

Mutlu, N., Vidaver, A. K., Coyne, D. P., Steadman, J. R., Lambrecht, P. A., and Reiser, J. (2008). Differential pathogenicity of Xanthomonas campestris pv. phaseoli and X. fuscans subsp. fuscans strains on bean genotypes with common blight resistance. *Plant Dis.* 92, 546–554. doi:10.1094/PDIS-92-4-0546.

Nakagawa, T., Kurose, T., Hino, T., Tanaka, K., Kawamukai, M., Niwa, Y., *et al.* (2007). Development of series of gateway binary vectors, pGWBs, for realizing efficient construction of fusion genes for plant transformation. *J. Biosci. Bioeng.* 104, 34–41. doi:10.1263/jbb.104.34.

Nakano, T., Suzuki, K., Fujimura, T., and Shinshi, H. (2006). Genome-Wide Analysis of the ERF Gene Family. *Plant Physiol.* 140, 411–432.

Nakato, V., Mahuku, G., and Coutinho, T. (2018). Xanthomonas campestris pv. musacearum: a major constraint to banana, plantain and enset production in central and east Africa over the past decade. *Mol. Plant Pathol.* 19, 525–536. doi:10.1111/mpp.12578.

Nakedde, T. (2015). IDENTIFICATION AND MAPPING OF QTL ASSOCIATED WITH FUSARIUM ROOT ROT RESISTANCE AND ROOT ARCHITECTURE TRAITS IN BLACK BEANS (Phaseolus vulgaris L.).

Nanjareddy, K., Arthikala, M. K., Gómez, B. M., Blanco, L., and Lara, M. (2017). Differentially expressed genes in mycorrhized and nodulated roots of common bean are associated with defense, cell wall architecture, N metabolism, and P metabolism. *PLoS One* 12, 1–25. doi:10.1371/journal.pone.0182328.

Nanni, L., Bitocchi, E., Bellucci, E., Rossi, M., Rau, D., Attene, G., *et al.* (2011). Nucleotide diversity of a genomic sequence similar to SHATTERPROOF (PvSHP1) in domesticated and wild common bean (Phaseolus vulgaris L.). *Theor. Appl. Genet.* 123, 1341–1357. doi:10.1007/s00122-011-1671-z.

Nassary, E. K., Baijukya, F., and Ndakidemi, P. A. (2020). Intensification of common bean and maize production through rotations to improve food security for smallholder farmers. *J. Agric. Food Res.* 2, 100040. doi:10.1016/j.jafr.2020.100040.

Navarro, L., Jay, F., Nomura, K., Sheng, Y. H., and Voinnet, O. (2008). Suppression of the MicroRNA pathway by bacterial effector proteins. *Science.* 321, 964–967. doi:10.1126/science.1159505.

Navarro, L., Zipfel, C., Rowland, O., Keller, I., Robatzek, S., Boller, T., *et al.* (2004). The Transcriptional Innate Immune Response to flg22 Interplay and Overlap with Avr Gene-Dependent Defense Responses and Bacterial Pathogenesis. *Plant Physiol.* 135, 1113–1128. doi:10.1104/pp.103.036749.1.

Nekrasov, V., Wang, C., Win, J., Lanz, C., Weigel, D., and Kamoun, S. (2017). Rapid generation of a transgene-free powdery mildew resistant tomato by genome deletion. *Sci. Rep.* 7, 1–6. doi:10.1038/s41598-017-00578-x.

Niño-Liu, D. O., Ronald, P. C., and Bogdanove, A. J. (2006). Xanthomonas oryzae pathovars: Model pathogens of a model crop. *Mol. Plant Pathol.* 7, 303–324. doi:10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x.

Nitsch, S., and Mussolino, C. (2018). Generation of TALE-based designer epigenome modifiers. *Methods Mol. Biol.* 1767, 89–109. doi:10.1007/978-1-4939-7774-1_4.

Nodari, R. O., Koinange, E. M. K., Kelly, J. D., and Gepts, P. (1993a). Towards an integrated linkage map of common bean 2. Development of an RFLP-based linkage map. *Theor. Appl. Genet.* 85, 513–520. doi:10.1007/bf00223999.

Nodari, R. O., Tsai, S. M., Guzmán, P., Gilbertson, R. L., and Gepts, P. (1993b). Toward an Integrated Linkage Map of Common Bean. III. Mapping Genetic Factors Controlling Host-Bacteria Interactions. *Genetics* 134, 341–50.

Nothnagel, E., McNeil, M., Albersheim, P., and Dell, A. (1983). Host-Pathogen Interactions: XXII. A Galacturonic Acid Oligosaccharide from Plant Cell Walls Elicits Phytoalexins. *Plant Physiol.* 71, 916–926. doi:10.1104/pp.71.4.916.

Nutter, F. W., Esker, P. D., and Netto, R. A. C. (2006). Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease data. *Eur. J. Plant Pathol.* 115, 95–103. doi:10.1007/s10658-005-1230-z.

O'Boyle, P. D., Kelly, J. D., and Kirk, W. W. (2007). Use of Marker-assisted Selection to Breed for Resistance to Common Bacterial Blight in Common Bean. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 132, 381–386.

Oerke, E. C. (2006). Crop losses to pests. *J. Agric. Sci.* 144, 31–43. doi:10.1017/S0021859605005708.

Ojeda-Martinez, D., Martinez, M., Diaz, I., and Santamaria, M. E. (2020). Saving time maintaining reliability: a new method for quantification of Tetranychus urticae damage in Arabidopsis whole rosettes. *BMC Plant Biol.* 20, 397. doi:10.1186/s12870-020-02584-0.

Ökmen, B., Etalo, D. W., Joosten, M. H. A. J., Bouwmeester, H. J., de Vos, R. C. H., Collemare, J., *et al.* (2013). Detoxification of α-tomatine by Cladosporium fulvum is required for full virulence on tomato. *New Phytol.* 198, 1203–1214. doi:10.1111/nph.12208.

Opio, A. F., Allen, D. J., and Teri, J. M. (1995). The role or weeds and non-host crops in the survival of Xanthomonas campestris pv. phaseoli in Uganda. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 38, 166–167.

Opio, A. F., Allen, D. J., and Teri, J. M. (1996). Pathogenic variation in Xanthomonas campestris pv. phaseoli, the causal agent of common bacterial blight in Phaseolus beans. *Plant Pathol.* 45, 1126–1133. doi:10.1046/j.1365-3059.1996.d01-187.x.

Opio, A. F., Teri, J. M., and Allen, D. J. (1993). Studies of seed transmission of Xanthomonas campestris pv phaseoli in common bean in uganda. *African Crop Sci. J.* 1, 59–67.

Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes (1978). Data sheets on quarantine organisms Nos 60 & 61, Xanthomonas phaseoli var. phaseoli and var. fuscans. 8, 1978.

Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes (2019). EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests.

Owens, J. B., Mauro, D., Stoytchev, I., Bhakta, M. S., Kim, M. S., Segal, D. J., *et al.* (2013).

Transcription activator like effector (TALE)-directed piggyBac transposition in human cells. *Nucleic Acids Res.* 41, 9197–9207. doi:10.1093/nar/gkt677.

Özkara, A., Akyil, D., and Konuk, M. (2016). "Pesticides, Environmental Pollution, and Health," in *Environmental Health Risk - Hazardous Factors to Living Species*, ed. M. L. L. and S. Soloneski, 2–28. doi:10.5772/63094.

Padmanabhan, M. S., Ma, S., Burch-Smith, T. M., Czymmek, K., Huijser, P., and Dinesh-Kumar, S. P. (2013). Novel Positive Regulatory Role for the SPL6 Transcription Factor in the N TIR-NB-LRR Receptor-Mediated Plant Innate Immunity. *PLoS Pathog.* 9. doi:10.1371/journal.ppat.1003235.

Papa, R., Acosta, J., Delgado-Salinas, A., and Gepts, P. (2005). A genome-wide analysis of differentiation between wild and domesticated Phaseolus vulgaris from Mesoamerica. *Theor. Appl. Genet.* 111, 1147–1158. doi:10.1007/s00122-005-0045-9.

Park, S. J., and Dhanvantari, B. N. (1994). Registration of Common Bean Blight-Resistant Germplasm, HR45. *Crop Sci.* 34, 548–548. doi:10.2135/cropsci1994.0011183x003400020065x.

Pastor-Corrales, M. A., Beebe, S. E., and Corree, F. J. (1981). Comparing 2 Inoculation Techniques for Evaluating Resistance in Beans to Xanthomonas campestrís. *Cent. Int. Agric. Trop.*, 193–503.

Pedraza García, F., Gallego, G. J., Beebe, S. E., and Tohme M., J. (1997). Marcadores SCAR y RAPD para la resitencia a la bacteriosis comun (CBB). In: Singh SP, Voysest O (eds) Taller de mejoramiento de frijol para el Siglo XXI: bases para una estrategia para America Latina. *CIAT, Cali, pp 130–134* 53, 130–134. doi:10.1017/CBO9781107415324.004.

Pedrosa-Harand, A., Porch, T., and Gepts, P. (2008). Standard Nomenclature for Common Bean Chromosomes and Linkage Groups. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 51, 106–107.

Pedrosa, A., Vallejos, C. E., Bachmair, A., and Schweizer, D. (2003). Integration of common bean (Phaseolus vulgaris L.) linkage and chromosomal maps. *Theor. Appl. Genet.* 106, 205–212. doi:10.1007/s00122-002-1138-3.

Pel, M. J. C., Van Dijken, A. J. H., Bardoel, B. W., Seidl, M. F., Van Der Ent, S., Van Strijp, J. A. G., *et al.* (2014). Pseudomonas syringae evades host immunity by degrading flagellin monomers with alkaline protease AprA. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 27, 603–610. doi:10.1094/MPMI-02-14-0032-R.

Peng, A., Chen, S., Lei, T., Xu, L., He, Y., Wu, L., *et al.* (2017). Engineering canker-resistant plants through CRISPR/Cas9-targeted editing of the susceptibility gene CsLOB1 promoter in citrus. *Plant Biotechnol. J.* 15, 1509–1519. doi:10.1111/pbi.12733.

Peng, Z., Hu, Y., Zhang, J., Huguet-Tapia, J. C., Block, A. K., Park, S., *et al.* (2019).

Xanthomonas translucens commandeers the host rate-limiting step in ABA biosynthesis for disease susceptibility. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116, 20938–20946. doi:10.1073/pnas.1911660116.

Pereira, A. L. A., Carazzolle, M. F., Abe, V. Y., de Oliveira, M. L. P., Domingues, M. N., Silva, J. C., *et al.* (2014). Identification of putative TAL effector targets of the citrus canker pathogens shows functional convergence underlying disease development and defense response. *BMC Genomics* 15, 157. doi:10.1186/1471-2164-15-157.

Pérez-Quintero, A. L., Rodriguez-R, L. M., Dereeper, A., López, C., Koebnik, R., Szurek, B., *et al.* (2013). An Improved Method for TAL Effectors DNA-Binding Sites Prediction Reveals Functional Convergence in TAL Repertoires of Xanthomonas oryzae Strains. *PLoS One* 8, e68464. doi:10.1371/journal.pone.0068464.

Perez-Quintero, A. L., and Szurek, B. (2019). A Decade Decoded: Spies and Hackers in the History of TAL Effectors Research. *Annu. Rev. Phytopathol.* 57, 1–23. doi:10.1146/annurev-phyto-082718-100026.

Perry, G., Dinatale, C., Xie, W., Navabi, A., Reinprecht, Y., Crosby, W., *et al.* (2013). A comparison of the molecular organization of genomic regions associated with resistance to common bacterial blight in two Phaseolus vulgaris genotypes. *Front. Plant Sci.* 4, 318. doi:10.3389/fpls.2013.00318.

Petre, B., and Kamoun, S. (2014). How Do Filamentous Pathogens Deliver Effector Proteins into Plant Cells? *PLoS Biol.* 12. doi:10.1371/journal.pbio.1001801.

Petry, N., Boy, E., Wirth, J. P., and Hurrell, R. F. (2015). Review: The potential of the common bean (phaseolus vulgaris) as a vehicle for iron biofortification. *Nutrients* 7, 1144–1173. doi:10.3390/nu7021144.

Pfeiffer, W. H., and McClafferty, B. (2007). HarvestPlus: Breeding crops for better nutrition. *Crop Sci.* 47. doi:10.2135/cropsci2007.09.0020IPBS.

Pike, J. A., Simms, V. A., Smith, C. W., Morgan, N. V., Khan, A. O., Poulter, N. S., *et al.* (2020). An adaptable analysis workflow for characterization of platelet spreading and morphology. *Platelets* 7104. doi:10.1080/09537104.2020.1748588.

Plett, J. M., Kemppainen, M., Kale, S. D., Kohler, A., Legué, V., Brun, A., *et al.* (2011). A secreted effector protein of laccaria bicolor is required for symbiosis development. *Curr. Biol.* 21, 1197–1203. doi:10.1016/j.cub.2011.05.033.

Poland, J. A., and Nelson, R. J. (2010). In the eye of the beholder: The effect of rater variability and different rating scales on QTL mapping. *Phytopathology* 101, 290–298. doi:10.1094/PHYTO-03-10-0087.

Poplawsky, A. R., Urban, S. C., and Chun, W. (2000). Biological role of xanthomonadin

pigments in Xanthomonas campestris pv. campestris. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 5123–5127. doi:10.1128/AEM.66.12.5123-5127.2000.

Popovic, T., Starovic, M., Aleksic, G., Zivkovic, S., Josic, D., Ignjatov, M., *et al.* (2012). Response of different beans against common bacterial blight disease caused by Xanthomonas axonopodis PV. phaseoli. *Bulg. J. Agric. Sci.* 18, 701–707.

Praetorius, F., and Dietz, H. (2017). Self-assembly of genetically encoded DNA-protein hybrid nanoscale shapes. *Science.* 355. doi:10.1126/science.aam5488.

Pritchard, L., Glover, R. H., Humphris, S., Elphinstone, J. G., and Toth, I. K. (2016). Genomics and taxonomy in diagnostics for food security: Soft-rotting enterobacterial plant pathogens. *Anal. Methods* 8, 12–24. doi:10.1039/c5ay02550h.

Qasim, W., Zhan, H., Samarasinghe, S., Adams, S., Amrolia, P., Stafford, S., *et al.* (2017). Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells. *Sci. Transl. Med.* 9, 1–9. doi:10.1126/scitranslmed.aaj2013.

Qi, J., Luo, H., and Hao, B. (2004). CVTree: A phylogenetic tree reconstruction tool based on whole genomes. *Nucleic Acids Res.* 32, 45–47. doi:10.1093/nar/gkh362.

Quezado-Duval, A. M., Leite, R. P., Truffi, D., and Camargo, L. E. A. (2004). Outbreaks of bacterial spot caused by Xanthomonas gardneri on processing tomato in central-west Brazil. *Plant Dis.* 88, 157–161. doi:10.1094/PDIS.2004.88.2.157.

Rademaker, J. L. W., Louws, F. J., Schultz, M. H., Rossbach, U., Vauterin, L., Swings, J., *et al.* (2005). A comprehensive species to strain taxonomic framework for Xanthomonas. *Phytopathology* 95, 1098–1111. doi:10.1094/PHYTO-95-1098.

Ramírez Rivera, N. G., García-Salinas, C., Aragão, F. J. L., and Díaz de la Garza, R. I. (2016). Metabolic engineering of folate and its precursors in Mexican common bean (Phaseolus vulgaris L.). *Plant Biotechnol. J.* 14, 2021–2032. doi:10.1111/pbi.12561.

Ranf, S., Eschen-Lippold, L., Pecher, P., Lee, J., and Scheel, D. (2011). Interplay between calcium signalling and early signalling elements during defence responses to microbe- or damage-associated molecular patterns. *Plant J.* 68, 100–113. doi:10.1111/j.1365-313X.2011.04671.x.

Ranf, S., Gisch, N., Schäffer, M., Illig, T., Westphal, L., Knirel, Y. A., *et al.* (2015). A lectin S-domain receptor kinase mediates lipopolysaccharide sensing in Arabidopsis thaliana. *Nat. Immunol.* 16, 426–433. doi:10.1038/ni.3124.

Rashid, R., Gaglia, G., Chen, Y. A., Lin, J. R., Du, Z., Maliga, Z., *et al.* (2019). Highly multiplexed immunofluorescence images and single-cell data of immune markers in tonsil and lung cancer. *Sci. data* 6, 323. doi:10.1038/s41597-019-0332-y.

Read, A. C., Hutin, M., Moscou, M. J., Rinaldi, F. C., and Bogdanove, A. J. (2020). Cloning of the rice Xo1 resistance gene and interaction of the Xo1 protein with the defense-suppressing Xanthomonas effector Tal2h. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 1–41.

Read, A. C., Rinaldi, F. C., Hutin, M., He, Y. Q., Triplett, L. R., and Bogdanove, A. J. (2016). Suppression of Xo1-mediated disease resistance in rice by a truncated, non-DNA-binding TAL effector of xanthomonas oryzae. *Front. Plant Sci.* 7, 1–14. doi:10.3389/fpls.2016.01516.

Rendón-Anaya, M., Montero-Vargas, J. M., Saburido-Álvarez, S., Vlasova, A., Capella-Gutierrez, S., Ordaz-Ortiz, J. J., *et al.* (2017). Genomic history of the origin and domestication of common bean unveils its closest sister species. *Genome Biol.* 18, 1–17. doi:10.1186/s13059-017-1190-6.

Richter, A., Streubel, J., Blücher, C., Szurek, B., Reschke, M., Grau, J., *et al.* (2014). A TAL effector repeat architecture for frameshift binding. *Nat. Commun.* 5, 1–10. doi:10.1038/ncomms4447.

Rinaldi, F. C., Doyle, L. A., Stoddard, B. L., and Bogdanove, A. J. (2017). The effect of increasing numbers of repeats on TAL effector DNA binding specificity. *Nucleic Acids Res.* 45, 6960–6970. doi:10.1093/nar/gkx342.

Ritchie, D., and Dittapongpitch, V. (1991). Plant Disease 1991 | Copper- and Streptomycin-Resistant Strains and Host Differentiated Races of Xanthomonas campestris pv. vesicatoria in North Carolina. *Plant Dis.*, 733–736.

Robatzek, S., Bittel, P., Chinchilla, D., Köchner, P., Felix, G., Shiu, S. H., *et al.* (2007). Molecular identification and characterization of the tomato flagellin receptor LeFLS2, an orthologue of Arabidopsis FLS2 exhibiting characteristically different perception specificities. *Plant Mol. Biol.* 64, 539–547. doi:10.1007/s11103-007-9173-8.

Rodríguez De Luque, J. J., and Creamer, B. (2014). Major constraints and trends for common bean production and commercialization; establishing priorities for future research. *Agron. Colomb.* 32, 423–431. doi:10.15446/agron.colomb.v32n3.46052.

Rodriguez, M., Rau, D., Bitocchi, E., Bellucci, E., Biagetti, E., Carboni, A., *et al.* (2016). Landscape genetics, adaptive diversity and population structure in Phaseolus vulgaris. *New Phytol.* 209, 1781–1794. doi:10.1111/nph.13713.

Roeschlin, R. A., Uviedo, F., García, L., Molina, M. C., Favaro, M. A., Chiesa, M. A., *et al.* (2019). PthA4AT, a 7.5-repeats transcription activator-like (TAL) effector from Xanthomonas citri ssp. citri, triggers citrus canker resistance. *Mol. Plant Pathol.* 20, 1394–1407. doi:10.1111/mpp.12844.

Rogers, J. M., Barrera, L. A., Reyon, D., Sander, J. D., Kellis, M., Keith Joung, J., *et al.* (2015). Context influences on TALE-DNA binding revealed by quantitative profiling. *Nat. Commun.* 6, 1–10. doi:10.1038/ncomms8440.

Römer, P., Hahn, S., Jordan, T., Strauss, T., Bonas, U., and Lahaye, T. (2007). Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science.* 318, 645–648.

Römer, P., Recht, S., Strauß, T., Elsaesser, J., Schornack, S., Boch, J., *et al.* (2010). Promoter elements of rice susceptibility genes are bound and activated by specific TAL effectors from the bacterial blight pathogen, Xanthomonas oryzae pv. oryzae. *New Phytol.* 187, 1048–1057. doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03217.x.

Ronald, P., and Joe, A. (2018). Molecular mimicry modulates plant host responses to pathogens. *Ann. Bot.* 121, 17–23. doi:10.1093/aob/mcx125.

Rooney, H. C. E., Van't Klooster, J. W., Van Der Hoorn, R. A. L., Joosten, M. H. A. J., Jones, J. D. G., and De Wit, P. J. G. M. (2005). Plant science: Cladosporium Avr2 inhibits tomato Rcr3 protease required for Cf-2-dependent disease resistance. *Science.* 308, 1783–1786. doi:10.1126/science.1111404.

Ross, A. F. (1961). Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. *Virology* 14, 340–358. doi:10.1016/0042-6822(61)90319-1.

Rossi, M., Bitocchi, E., Bellucci, E., Nanni, L., Rau, D., Attene, G., *et al.* (2009). Linkage disequilibrium and population structure in wild and domesticated populations of Phaseolus vulgaris L. *Evol. Appl.* 2, 504–522. doi:10.1111/j.1752-4571.2009.00082.x.

Rossier, O., Wengelnik, K., Hahn, K., and Bonas, U. (1999). The Xanthomonas Hrp type III system secretes proteins from plant and mammalian bacterial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 9368–9373. doi:10.1073/pnas.96.16.9368.

Rousseau, C., Belin, E., Bove, E., Rousseau, D., Fabre, F., Berruyer, R., *et al.* (2013). High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. *Plant Methods* 9, 17. doi:10.1186/1746-4811-9-17.

Rousseau, C., Hunault, G., Gaillard, S., Bourbeillon, J., Montiel, G., Simier, P., *et al.* (2015). Phenoplant: A web resource for the exploration of large chlorophyll fluorescence image datasets. *Plant Methods* 11, 24. doi:10.1186/s13007-015-0068-4.

Ruan, J., Zhou, Y., Zhou, M., Yan, J., Khurshid, M., Weng, W., *et al.* (2019). Jasmonic acid signaling pathway in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 20. doi:10.3390/ijms20102479.

Rubiales, D., and Mikic, A. (2015). Introduction: Legumes in Sustainable Agriculture. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 34, 2–3. doi:10.1080/07352689.2014.897896.

Ruh, M. (2017). Déterminisme de la spécificité d'hôte et rôle des effecteurs TAL dans l'interaction Xanthomonas – haricot.

Ruh, M., Briand, M., Bonneau, S., Jacques, M., and Chen, N. W. G. (2017). Xanthomonas

adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. *BMC Genomics* 18, 1–18. doi:10.1186/s12864-017-4087-6.

Russell, A. R., Ashfield, T., and Innes, R. W. (2015). Pseudomonas syringae effector AvrPphB suppresses AvrB-induced activation of RPM1 but not AvrRpm1-induced activation. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 28, 727–735. doi:10.1094/MPMI-08-14-0248-R.

Ryder, L. S., and Talbot, N. J. (2015). Regulation of appressorium development in pathogenic fungi. *Curr. Opin. Plant Biol.* 26, 8–13. doi:10.1016/j.pbi.2015.05.013.

Sadohara, R. (2020). Quality characteristics of bean paste as a confectionery ingredient and recent breeding efforts of common beans in Japan. *J. Sci. Food Agric.* 100, 10–15. doi:10.1002/jsfa.10013.

Sallam, N. M. (2011). Biological control of common blight of bean (Phaseolus vulgaris) caused by Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli by using the bacterium Rahnella aquatilis. *Arch. Phytopathol. Plant Prot.* 44, 1966–1975. doi:10.1080/03235408.2010.544469.

Sallet, E., Gouzy, J., and Schiex, T. (2014). EuGene-PP: A next-generation automated annotation pipeline for prokaryotic genomes. *Bioinformatics* 30, 2659–2661. doi:10.1093/bioinformatics/btu366.

Sander, J. D., Cade, L., Khayter, C., Reyon, D., Peterson, R. T., Joung, J. K., *et al.* (2012). Targeted gene disruption in somatic zebrafish cells using engineered TALENs. *Nat. Biotechnol.* 29, 697–698. doi:10.1038/nbt.1934.Targeted.

Sapoukhina, N., Durel, C. E., and Le Cam, B. (2009). Spatial deployment of gene-for-gene resistance governs evolution and spread of pathogen populations. *Theor. Ecol.* 2, 229–238. doi:10.1007/s12080-009-0045-5.

Sati, S. C., and Joshi, S. (2011). Antibacterial activities of Ginkgo biloba L. leaf extracts. *ScientificWorldJournal.* 11, 2237–2242. doi:10.1100/2011/545421.

Sato, M., Nakahara, K., Yoshii, M., Ishikawa, M., and Uyeda, I. (2005). Selective involvement of members of the eukaryotic initiation factor 4E family in the infection of Arabidopsis thaliana by potyviruses. *FEBS Lett.* 579, 1167–1171. doi:10.1016/j.febslet.2004.12.086.

Saur, I. M. L., Kadota, Y., Sklenar, J., Holton, N. J., Smakowska, E., Belkhadir, Y., *et al.* (2016). NbCSPR underlies age-dependent immune responses to bacterial cold shock protein in Nicotiana benthamiana. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, 3389–3394. doi:10.1073/pnas.1511847113.

Schäfer, A., Tauch, A., Jsger, W., Kalinowski, J., Thierbachb, G., and Piihler, A. (1994). Small mobilizable multi-purpose cloning vectors derived from the Escherichia coli plasmids pK18 and pK19: selection of defined deletions in the chromosome of Corynebacterium glutumicum. *Gene* 145, 49–5201.

Schandry, N., Jacobs, J. M., Szurek, B., and Perez-Quintero, A. L. (2018). A cautionary TALE: how plant breeding may have favoured expanded TALE repertoires in Xanthomonas. *Mol. Plant Pathol.* 19, 1297–1301. doi:10.1111/mpp.12670.

Scheler, C., Durner, J., and Astier, J. (2013). Nitric oxide and reactive oxygen species in plant biotic interactions. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16, 534–539. doi:10.1016/j.pbi.2013.06.020.

Scheublin, T. R., and Van Der Heijden, M. G. A. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi colonize nonfixing root nodules of several legume species. *New Phytol.* 172, 732–738. doi:10.1111/j.1469-8137.2006.01858.x.

Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., *et al.* (2012). Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. *Nat. Methods* 9, 676–682. doi:10.1038/nmeth.2019.

Schmutz, J., McClean, P. E., Mamidi, S., Wu, G. A., Cannon, S. B., Grimwood, J., *et al.* (2014). A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nat. Genet.* 46, 707–713. doi:10.1038/ng.3008.

Schornack, S., Ballvora, A., Gürlebeck, D., Peart, J., Ganal, M., Baker, B., *et al.* (2004). The tomato resistance protein Bs4 is a predicted non-nuclear TIR-NB-LRR protein that mediates defense responses to severely truncated derivatives of AvrBs4 and overexpressed AvrBs3. *Plant J.* 37, 46–60. doi:10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x.

Schornack, S., Meyer, A., Römer, P., Jordan, T., and Lahaye, T. (2006). Gene-for-gene-mediated recognition of nuclear-targeted AvrBs3-like bacterial effector proteins. *J. Plant Physiol.* 163, 256–272. doi:10.1016/j.jplph.2005.12.001.

Schornack, S., Minsavage, G. V., Stall, R. E., Jones, J. B., and Lahaye, T. (2008). Characterization of AvrHah1, a novel AvrBs3-like effector from Xanthomonas gardneri with virulence and avirulence activity. *New Phytol.* 179, 546–556. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02487.x.

Schornack, S., Moscou, M. J., Ward, E. R., and Horvath, D. M. (2013). Engineering Plant Disease Resistance Based on TAL Effectors. *Annu. Rev. Phytopathol.* 51, 383–406.

Schornack, S., Peter, K., Bonas, U., and Lahaye, T. (2005). Expression levels of avrBs3-like genes affect recognition specificity in tomato Bs4- but not in pepper Bs3-mediated perception. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 18, 1215–1225. doi:10.1094/MPMI-18-1215.

Schreiber, T., and Bonas, U. (2014). Repeat 1 of TAL effectors affects target specificity for the base at position zero. *Nucleic Acids Res.* 42, 7160–7169. doi:10.1093/nar/gku341.

Schuster, M. L., and Coyne, D. P. (1974). Survival Mechanisms of Phytopathogenic Bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 12, 199–221.

Schuster, M. L., and Coyne, D. P. (1975). Detection of Bacteria in bean seed. *Ann Rep. Bean Improv. Coop.*, 18–71.

Schwartz, A. R., Morbitzer, R., Lahaye, T., and Staskawicz, B. J. (2017). TALE-induced bHLH transcription factors that activate a pectate lyase contribute to water soaking in bacterial spot of tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114, E897–E903. doi:10.1073/pnas.1620407114.

Schwartz, A. R., Potnis, N., Timilsina, S., Wilson, M., Patané, J., Martins, J., *et al.* (2015). Phylogenomics of Xanthomonas field strains infecting pepper and tomato reveals diversity in effector repertoires and identifies determinants of host specificity. *Front. Microbiol.* 6. doi:10.3389/fmicb.2015.00535.

Sels, J., Mathys, J., De Coninck, B. M. A., Cammue, B. P. A., and De Bolle, M. F. C. (2008). Plant pathogenesis-related (PR) proteins: A focus on PR peptides. *Plant Physiol. Biochem.* 46, 941–950. doi:10.1016/j.plaphy.2008.06.011.

Shan, L., He, P., Li, J., Heese, A., Peck, S. C., Nurnberger, T., *et al.* (2008). Bacterial Effectors Target the Common Signaling Partner BAK1 to Disrupt Multiple MAMP Receptor-Signaling Complexes and Impede Plant Immunity. *Cell Host Microbe* 4, 17–27. doi:10.1016/j.chom.2008.05.017.Bacterial.

Shang, Y., Li, X., Cui, H., He, P., Thilmony, R., Chintamanani, S., *et al.* (2006). RAR1, a central player in plant immunity, is targeted by Pseudomonas syringae effector AvrB. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 19200–19205. doi:10.1073/pnas.0607279103.

Shi, C., Chaudhary, S., Yu, K., Park, S. J., Navabi, A., and McClean, P. E. (2011a). Identification of candidate genes associated with CBB resistance in common bean HR45 (Phaseolus vulgaris L.) using cDNA-AFLP. *Mol. Biol. Rep.* 38, 75–81. doi:10.1007/s11033-010-0079-1.

Shi, C., Navabi, A., and Yu, K. (2011b). Association mapping of common bacterial blight resistance QTL in Ontario bean breeding populations. *BMC Plant Biol.* 11, 52. doi:10.1186/1471-2229-11-52.

Shimizu, T., Nakano, T., Takamizawa, D., Desaki, Y., Ishii-Minami, N., Nishizawa, Y., *et al.* (2010). Two LysM receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice. *Plant J.* 64, 204–214. doi:10.1111/j.1365-313X.2010.04324.x.

Singh, A., Jones, S., Ganapathysubramanian, B., Sarkar, S., Mueller, D., Sandhu, K., *et al.* (2020). Challenges and Opportunities in Machine-Augmented Plant Stress Phenotyping. *Trends Plant Sci.* xx, 1–17. doi:10.1016/j.tplants.2020.07.010.

Singh, S. P., and Miklas, P. N. (2015). Breeding common bean for resistance to common blight: A review. *Crop Sci.* 55, 971–984. doi:10.2135/cropsci2014.07.0502.

Singh, S. P., and Muñoz, C. G. (1999). Resistance to common bacterial blight among Phaseolus species and common bean improvement. *Crop Sci.* 39, 80–89. doi:10.2135/cropsci1999.0011183X003900010013x.

Singh, S. P., and Schwartz, H. F. (2010). Breeding common bean for resistance to diseases: A review. *Crop Sci.* 50, 2199–2223. doi:10.2135/cropsci2009.03.0163.

Sinha, D., Gupta, M. K., Patel, H. K., Ranjan, A., and Sonti, R. V. (2013). Cell Wall Degrading Enzyme Induced Rice Innate Immune Responses Are Suppressed by the Type 3 Secretion System Effectors XopN, XopQ, XopX and XopZ of Xanthomonas oryzae pv. oryzae. *PLoS One* 8, 1–19. doi:10.1371/journal.pone.0075867.

Smith, E. F. (1897). Description of Bacillus phaseoli n. sp. *Bot. Gaz.* 24, 192.

Smith, S. E., Jakobsen, I., Grønlund, M., and Smith, F. A. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: Interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiol.* 156, 1050–1057. doi:10.1104/pp.111.174581.

Smith, S. E., and Smith, F. A. (2011). Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales. *Annu. Rev. Plant Biol.* 62, 227–250. doi:10.1146/annurev-arplant-042110-103846.

Socquet-Juglard, D., Kamber, T., Pothier, J. F., Christen, D., Gessler, C., Duffy, B., *et al.* (2013). Comparative RNA-Seq Analysis of Early-Infected Peach Leaves by the Invasive Phytopathogen Xanthomonas arboricola pv. pruni. *PLoS One* 8, 1–12. doi:10.1371/journal.pone.0054196.

Solano, R., Stepanova, A., Chao, Q., and Ecker, J. R. (1998). Nuclear events in ethylene signaling: A transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1. *Genes Dev.* 12, 3703–3714. doi:10.1101/gad.12.23.3703.

Song, W., Wang, G., Chen, L., Kim, H., Pi, L., Hoisten, T., *et al.* (1995). A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, Xa21. *Science.* 270, 1804–1806. doi:10.1126/science.270.5243.1804.

Spoel, S. H., Johnson, J. S., and Dong, X. (2007). Regulation of tradeoffs between plant defenses against pathogens with different lifestyles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 18842–18847. doi:10.1073/pnas.0708139104.

Stahl, E. A., and Bishop, J. G. (2000). Plant-pathogen arms races at the molecular level. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 299–304. doi:10.1016/S1369-5266(00)00083-2.

Stakman, E. C. (1915). Relation between Puccinia graminis and plants highly resistant to its

attack. *J Agric. Res.* 4, 198–199.

Stella, S., Molina, R., Bertonatti, C., Juillerrat, A., and Montoya, G. (2014). Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of the novel modular DNA-binding protein BurrH in its apo form and in complex with its target DNA. *Acta Crystallogr. Sect. FStructural Biol. Commun.* 70, 87–91. doi:10.1107/S2053230X13033037.

Stella, S., Molina, R., Yefimenko, I., Prieto, J., Silva, G., Bertonati, C., *et al.* (2013). Structure of the AvrBs3-DNA complex provides new insights into the initial thymine-recognition mechanism. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* 69, 1707–1716. doi:10.1107/S0907444913016429.

Stevens, C., Bennett, M. A., Athanassopoulos, E., Tsiamis, G., Taylor, J. D., and Mansfield, J. W. (1998). Sequence variations in alleles of the avirulence gene avrPphE.R2 from Pseudomonas syringae pv. phaseolicola lead to loss of recognition of the AvrPphE protein within bean cells and a gain in cultivar-specific virulence. *Mol. Microbiol.* 29, 165–177. doi:10.1046/j.1365-2958.1998.00918.x.

Strauß, T., Van Poecke, R. M. P., Strauß, A., Römer, P., Minsavage, G. V., Singh, S., *et al.* (2012). RNA-seq pinpoints a Xanthomonas TAL-effector activated resistance gene in a large-crop genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 19480–19485. doi:10.1073/pnas.1212415109.

Strawn, M. A., Marr, S. K., Inoue, K., Inada, N., Zubieta, C., and Wildermuth, M. C. (2007). Arabidopsis isochorismate synthase functional in pathogen-induced salicylate biosynthesis exhibits properties consistent with a role in diverse stress responses. *J. Biol. Chem.* 282, 5919–5933. doi:10.1074/jbc.M605193200.

Streubel, J., Blücher, C., Landgraf, A., and Boch, J. (2012). TAL effector RVD specificities and efficiencies. *Nat. Biotechnol.* 30, 593–595.

Streubel, J., Pesce, C., Hutin, M., Koebnik, R., Boch, J., and Szurek, B. (2013). Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to Xanthomonas oryzae pv. oryzae. *New Phytol.* 200, 808–819. doi:10.1111/nph.12411.

Su, J., Yang, L., Zhu, Q., Wu, H., He, Y., Liu, Y., *et al.* (2018). Active photosynthetic inhibition mediated by MPK3/MPK6 is critical to effector-triggered immunity. *PLoS Biol.* 16, 1–29. doi:10.1371/journal.pbio.2004122.

Sugio, A., Yang, B., Zhu, T., and White, F. F. (2007). Two type III effector genes of Xanthomonas oryzae pv. oryzae control the induction of the host genes OsTFIIAγ1 and OsTFX1 during bacterial blight of rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 10720–10725. doi:10.1073/pnas.0701742104.

Sun, L., Nasrullah, Ke, F., Nie, Z., Wang, P., and Xu, J. (2019). Citrus genetic engineering for disease resistance: past, present and future. *Int. J. Mol. Sci.* 20. doi:10.3390/ijms20215256.

Supek, F., Bošnjak, M., Škunca, N., and Šmuc, T. (2011). Revigo summarizes and visualizes long lists of gene ontology terms. *PLoS One* 6, e21800. doi:10.1371/journal.pone.0021800.

Swarup, S., De Feyter, R., Brlansky, R. H., and Gabriel, D. W. (1991). A pathogenicity locus from Xanthomonas citri enables strains from several pathovars of X. campestris to elicit cankerlike lesions on Citrus. *Phytopathology* 81, 802–809.

Szczesny, R., Büttner, D., Escolar, L., Schulze, S., Seiferth, A., and Bonas, U. (2010). Suppression of the AvrBs1-specific hypersensitive response by the YopJ effector homolog AvrBsT from Xanthomonas depends on a SNF1-related kinase. *New Phytol.* 187, 1058–1074. doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03346.x.

Szurek, B., Marois, E., Bonas, U., and Van Ackerveken, G. Den (2001). Eukaryotic features of the Xanthomonas type III effector AvrBs3: Protein domains involved in transcriptional activation and the interaction with nuclear import receptors from pepper. *Plant J.* 26, 523–534. doi:10.1046/j.0960-7412.2001.01046.x.

Szurek, B., Rossier, O., Hause, G., and Bonas, U. (2002). Type III-dependent translocation of the Xanthomonas AvrBs3 protein into the plant cell. *Mol. Microbiol.* 46, 13–23. doi:10.1046/j.1365-2958.2002.03139.x.

Tada, Y., Spoel, S. H., Pajerowska-Mukhtar, K., Mou, Z., Song, J., Wang, C., *et al.* (2008). Plant Immunity Requires Conformational Charges of NPR1 via S- Nitrosylation and Thioredoxins. *Science.* 321, 5891. doi:10.1126/science.1156970.

Taguchi, F., Shimizu, R., Nakajima, R., Toyoda, K., Shiraishi, T., and Ichinose, Y. (2003). Differential effects of flagellins from *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *tomato* and *glycinea* on plant defense response. *Plant Physiol. Biochem.* 41, 165–174.

Tajini, F., Trabelsi, M., and Drevon, J. J. (2012). Combined inoculation with Glomus intraradices and Rhizobium tropici CIAT899 increases phosphorus use efficiency for symbiotic nitrogen fixation in common bean (Phaseolus vulgaris L.). *Saudi J. Biol. Sci.* 19, 157–163. doi:10.1016/j.sjbs.2011.11.003.

Takai, R., Isogai, A., Takayama, S., and Che, F. S. (2008). Analysis of flagellin perception mediated by flg22 receptor OsFLS2 in rice. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 21, 1635–1642. doi:10.1094/MPMI-21-12-1635.

Tao, F., Swarup, S., and Zhang, L. H. (2010). Quorum sensing modulation of a putative glycosyltransferase gene cluster essential for Xanthomonas campestris biofilm formation. *Environ. Microbiol.* 12, 3159–3170. doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02288.x.

Tao, Y., Xie, Z., Chen, W., Glazebrook, J., Chang, H. S., Han, B., *et al.* (2003). Quantitative nature of Arabidopsis responses during compatible and incompatible interactions with the bacterial pathogen Pseudomonas syringae. *Plant Cell* 15, 317–330. doi:10.1105/tpc.007591.

Tar'an, B., Michaels, T. E., and Pauls, K. P. (2001). Mapping genetic factors affecting the reaction to <i>Xanthomonas axonopodis </i>pv<i>. phaseoli </i>in <i>Phaseolus vulgaris</i> L. under field conditions. *Genome* 44, 1046–1056. doi:10.1139/gen-44-6-1046.

Tarigan, J. R., and Rudolph, K. (1996). Investigations on the resistance of bean genotypes to Xanthomonas campestris pv. phaseoli and X. c. pv. phaseoli var. fuscans and on the differentiation of bacterial strains. *Ann. Rep. Bean Improv. Coop.* 39, 284–285.

Tebaldi, N. D., Peters, J., Souza, R. M., Chitarra, L. G., van der Zouwen, P., Bergervoet, J., *et al.* (2010). Detection of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli in bean seeds by flow cytometry, immunostaining and direct viable counting. *Trop. Plant Pathol.* 35, 213–222. doi:10.1590/s1982-56762010000400002.

Teper, D., Girija, A. M., Bosis, E., Popov, G., Savidor, A., and Sessa, G. (2018). The Xanthomonas euvesicatoria type III effector XopAU is an active protein kinase that manipulates plant MAP kinase signaling. *PLoS Pathog.* 14, 1–33. doi:10.1371/journal.ppat.1006880.

Tesson, L., Usal, C., Meq́noret, S., Leung, E., Niles, B. J., Remy, S., *et al.* (2011). Knockout rats generated by embryo microinjection of TALENs. *Nat. Biotechnol.* 29, 695–696. doi:10.1038/nbt.1940.

Testerink, C., and Munnik, T. (2011). Molecular, cellular, and physiological responses to phosphatidic acid formation in plants. *J. Exp. Bot.* 62, 2349–2361. doi:10.1093/jxb/err079.

Teulet, A., Busset, N., Fardoux, J., Gully, D., Chaintreuil, C., Cartieaux, F., *et al.* (2019). The rhizobial type III effector ErnA confers the ability to form nodules in legumes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116, 21758–21768. doi:10.1073/pnas.1904456116.

Thanisch, K., Schneider, K., Morbitzer, R., Solovei, I., Lahaye, T., Bultmann, S., *et al.* (2014). Targeting and tracing of specific DNA sequences with dTALEs in living cells. *Nucleic Acids Res.* 42. doi:10.1093/nar/gkt1348.

Thomas, C. M., Jones, D. A., Parniske, M., Harrison, K., Balint-Kurti, P. J., Hatzixanthis, K., *et al.* (1997). Characterization of the tomato Cf-4 Gene for Resistance to Cladosporium fulvum ldentifies Sequences That Determine Recognitional Specificity in Cf-4 and Cf-9. *Plant Cell* 9, 2209–2224. doi:10.1105/tpc.9.12.2209.

Thomas, C. V., and Waines, J. G. (1984). Fertile backcross and allotetraploid plants from crosses between tepary beans and common beans. *J. Hered.* 75, 93–98. doi:10.1093/oxfordjournals.jhered.a109901.

Thomma, B. P. H. J., Eggermont, K., Penninckx, I. A. M. A., Mauch-Mani, B., Vogelsang, R., Cammue, B. P. A., *et al.* (1998). Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in arabidopsis are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 15107–15111.

doi:10.1073/pnas.95.25.15107.

Thomma, B. P. H. J., Eggermont, K., Tierens, K. F. M.-J., and Broekaert, W. F. (1999). Requirement of Functional Ethylene-Insensitive 2 Gene for Efficient Resistance of Arabidopsis to Infection by Botrytis cinerea. *Plant Physiol.* 121, 1093–1101. doi:10.1104/pp.121.4.1093.

Thomma, B. P. H. J., Nürnberger, T., and Joosten, M. H. A. J. (2011). Of PAMPs and effectors: The blurred PTI-ETI dichotomy. *Plant Cell* 23, 4–15. doi:10.1105/tpc.110.082602.

Thordal-Christensen, H. (2020). A holistic view on plant effector-triggered immunity presented as an iceberg model. *Cell. Mol. Life Sci.* doi:10.1007/s00018-020-03515-w.

Tian, D., Wang, J., Zeng, X., Gu, K., Qiu, C., Yang, X., *et al.* (2014). The Rice TAL effector-dependent resistance protein XA10 triggers cell death and calcium depletion in the endoplasmic reticulum. *Plant Cell* 26, 497–515. doi:10.1105/tpc.113.119255.

Tian, T., Liu, Y., Yan, H., You, Q., Yi, X., Du, Z., *et al.* (2017). AgriGO v2.0: A GO analysis toolkit for the agricultural community, 2017 update. *Nucleic Acids Res.* 45, W122–W129. doi:10.1093/nar/gkx382.

Timilsina, S., Pereira-Martin, J. A., Minsavage, G. V., Iruegas-Bocardo, F., Abrahamian, P., Potnis, N., *et al.* (2019). Multiple recombination events drive the current genetic structure of xanthomonas perforans in Florida. *Front. Microbiol.* 10, 1–13. doi:10.3389/fmicb.2019.00448.

Timilsina, S., Potnis, N., Newberry, E. A., Liyanapathiranage, P., Iruegas-bocardo, F., White, F. F., *et al.* (2020). Xanthomonas diversity, virulence and plant–pathogen interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* doi:10.1038/s41579-020-0361-8.

To, J. P. C., Haberer, G., Ferreira, F. J., Deruère, J., Mason, M. G., Schaller, G. E., *et al.* (2004). Type-A Arabidopsis response regulators are partially redundant negative regulators of cytokinin signaling. *Plant Cell* 16, 658–671. doi:10.1105/tpc.018978.

Todorović, B., Potočnik, I., Rekanović, E., Stepanović, M., Kostić, M., Ristić, M., *et al.* (2016). Toxicity of twenty-two plant essential oils against pathogenic bacteria of vegetables and mushrooms. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* 51, 832–839. doi:10.1080/03601234.2016.1208462.

Torres, J. P., Maringoni, A. C., and Silva Jr., T. A. F. (2009). SURVIVAL OF XANTHOMONAS AXONOPODIS pv . PHASEOLI var FUSCANS IN COMMON BEAN LEAFLETS ON SOIL. *J. plant Pathol.* 91, 195–198.

Torres, M. A., Jones, J. D. G., and Dangl, J. L. (2006). Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant Physiol.* 141, 373–378. doi:10.1104/pp.106.079467.

Toruno, T. T., Stergiopoulos, I., and Coaker, G. (2016). Plant-Pathogen Effectors: Cellular Probes Interfering with Plant Defenses in Spatial and Temporal Manners. *Annu Rev Phytopathol* 54, 419–441. doi:10.1146/annurev-phyto-080615-100204.

Toth, I. K., Hyman, L. J., Taylor, R., and Birch, P. R. J. (1998). PCR-based detection of Xanthomonas campestris pv. phaseoli var. fuscans in plant material and its differentiation from X. c. pv. phaseoli. *J. Appl. Microbiol.* 85, 327–336. doi:10.1046/j.1365-2672.1998.00514.x.

Tran, T. T., Pérez-Quintero, A. L., Wonni, I., Carpenter, S. C. D., Yu, Y., Wang, L., *et al.* (2018). Functional analysis of African Xanthomonas oryzae pv . oryzae TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf light of rice. *PLoS Pathog.* 14, e1007092. doi:10.1371/journal. ppat.1007092.

Trapp, J. J., Urrea, C. A., Cregan, P. B., and Miklas, P. N. (2015). Quantitative trait loci for yield under multiple stress and drought conditions in a dry bean population. *Crop Sci.* 55, 1596–1607. doi:10.2135/cropsci2014.11.0792.

Trdá, L., Fernandez, O., Boutrot, F., Héloir, M. C., Kelloniemi, J., Daire, X., *et al.* (2014). The grapevine flagellin receptor VvFLS2 differentially recognizes flagellin-derived epitopes from the endophytic growth-promoting bacterium Burkholderia phytofirmans and plant pathogenic bacteria. *New Phytol.* 201, 1371–1384. doi:10.1111/nph.12592.

Trebst, A. (2007). Inhibitors in the functional dissection of the photosynthetic electron transport system. *Photosynth. Res.* 92, 217–224. doi:10.1007/s11120-007-9213-x.

Triplett, L. R., Cohen, S. P., Heffelfinger, C., Schmidt, C. L., Huerta, A., Tekete, C., *et al.* (2016). A resistance locus in the American heirloom rice variety Carolina Gold Select is triggered by TAL effectors with diverse predicted targets and is effective against African strains of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola. *Plant J.* 87, 472–483. doi:10.1111/tpj.13212.

Triplett, L. R., Zhao, Y., and Sundin, G. W. (2006). Genetic differences between blight-causing Erwinia species with differing host specificities, identified by suppression subtractive hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 7359–7364. doi:10.1128/AEM.01159-06.

Truniger, V., and Aranda, M. A. (2009). *Recessive Resistance to Plant Viruses*. Elsevier doi:10.1016/S0065-3527(09)07504-6.

Tsuda, K., and Katagiri, F. (2010). Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Curr. Opin. Plant Biol.* 13, 459–465. doi:10.1016/j.pbi.2010.04.006.

Tsuda, K., Sato, M., Glazebrook, J., Cohen, J. D., and Katagiri, F. (2008). Interplay between MAMP-triggered and SA-mediated defense responses. *Plant J.* 53, 763–775. doi:10.1111/j.1365-313X.2007.03369.x.

Tugume, J. K., Tusiime, G., Sekamate, A. M., Buruchara, R., and Mukankusi, C. M. (2018). Diversity and interaction of common bacterial blight disease-causing bacteria (Xanthomonas spp.) with Phaseolus vulgaris L. *Crop J.* 7, 1–7. doi:10.1016/j.cj.2018.10.002.

Tushemereirwe, W., Kangire, A., Ssekiwoko, F., Offord, L. C., Crozier, J., Boa, E., *et al.* (2004). First report of Xanthomonas campestris pv. musacearum on banana in Uganda. *Plant Pathol.* 53, 802. doi:10.1111/j.1365-3059.2004.01090.x.

Uhse, S., and Djamei, A. (2018). Effectors of plant-colonizing fungi and beyond. *PLoS Pathog.* 14, 1–8. doi:10.1371/journal.ppat.1006992.

Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., Ye, J., Faircloth, B. C., Remm, M., *et al.* (2012). Primer3-new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res.* 40, e115. doi:10.1093/nar/gks596.

Üstün, S., Bartetzko, V., and Börnke, F. (2013). The Xanthomonas campestris Type III Effector XopJ Targets the Host Cell Proteasome to Suppress Salicylic-Acid Mediated Plant Defence. *PLoS Pathog.* 9. doi:10.1371/journal.ppat.1003427.

Üstün, S., and Börnke, F. (2014). Interactions of Xanthomonas type-III effector proteins with the plant ubiquitin and ubiquitin-like pathways. *Front. Plant Sci.* 5, 1–6. doi:10.3389/fpls.2014.00736.

Vacher, C., Hampe, A., Porté, A. J., Sauer, U., Compant, S., and Morris, C. E. (2016). The Phyllosphere: Microbial Jungle at the Plant–Climate Interface. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 47, 1–24. doi:10.1146/annurev-ecolsys-121415-032238.

Vallejos, C. E., Sakiyama, N. S., and Chase, C. D. (1992). A molecular marker-based linkage map of Phaseolus vulgaris L. *Genetics* 131, 733–740.

Van Den Ackerveken, G., Marois, E., and Bonas, U. (1996). Recognition of the bacterial avirulence protein AvrBs3 occurs inside the host plant cell. *Cell* 87, 1307–1316. doi:10.1016/S0092-8674(00)81825-5.

Van Der Biezen, E. A., and Jones, J. D. G. (1998). Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. *Trends Biochem. Sci.* 23, 454–456. doi:10.1016/S0968-0004(98)01311-5.

van der Burgh, A. M., and Joosten, M. H. A. J. (2019). Plant Immunity: Thinking Outside and Inside the Box. *Trends Plant Sci.* 24, 587–601. doi:10.1016/j.tplants.2019.04.009.

Van Der Hoorn, R. A. L., and Kamoun, S. (2008). From guard to decoy: A new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell* 20, 2009–2017. doi:10.1105/tpc.108.060194.

Van Larebeke, N., Engler, G., Holsters, M., Van Den Elsacker, S., Zaenon, I., Schilperoort, R. A., *et al.* (1974). Large plasmid in Agrobacterium tumefaciens essential for crown gall-inducing ability. *Nature* 252.

Vandemark, G. J., Fourie, D., and Miklas, P. N. (2008). Genotyping with real-time PCR reveals recessive epistasis between independent QTL conferring resistance to common bacterial blight in dry bean. *Theor. Appl. Genet.* 117, 513–522. doi:10.1007/s00122-008-0795-2.

Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., *et al.* (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.* 3, research0034.1–0034.11. doi:10.1186/gb-2002-3-7-research0034.

Vannier, N., Agler, M., and Hacquard, S. (2019). Microbiota-mediated disease resistance in plants. *PLoS Pathog.* 15, 1–7. doi:10.1371/journal.ppat.1007740.

Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K., and Swings, J. (1995). Reclassification of Xanthomonas. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45, 472–489. doi:10.1099/00207713-45-3-472.

Vera Cruz, C. M., Bai, J., Oña, I., Leung, H., Nelson, R. J., Mew, T. W., *et al.* (2000). Predicting durability of a disease resistance gene based on an assessment of the fitness loss and epidemiological consequences of avirulence gene mutation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97, 13500–13505. doi:10.1073/pnas.250271997.

Vidaver, A. K. (1993). *Xanthomonas campestris pv. phaseoli: cause of common bacterial blight of bean.* J. G. Swin. , ed. U. C. & H. London.

Viecelli, C. A., and Moerschbächer, T. (2013). Control of the common bacterial blight in the bean crop by using foliar fertilizers. *Sci. Agrar. Parana.* 12, 66–72.

Viteri, D. M., Cregan, P. B., Trapp, J. J., Miklas, P. N., and Singh, S. P. (2014a). A new common bacterial blight resistance QTL in VAX 1 common bean and interaction of the new QTL, SAP6, and SU91 with bacterial strains. *Crop Sci.* 54, 1598–1608. doi:10.2135/cropsci2014.01.0008.

Viteri, D. M., and Singh, S. P. (2014). Response of 21 common beans of diverse origins to two strains of the common bacterial blight pathogen, Xanthomonas campestris pv. phaseoli. *Euphytica* 200, 379–388. doi:10.1007/s10681-014-1161-x.

Viteri, D. M., Terán, H., Mari, M. C., Asensio, C., Porch, T. G., Miklas, P. N., *et al.* (2014b). Progress in breeding Andean common bean for resistance to common bacterial blight. *Crop Sci.* 54, 2084–2092. doi:10.2135/cropsci2014.03.0177.

Vlot, A. C., Dempsey, D. A., and Klessig, D. F. (2009). Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47, 177–206. doi:10.1146/annurev.phyto.050908.135202.

Voytas, D. F., and Joung, J. K. (2009). DNA binding made easy. *Science.* 326, 1491–1492. doi:10.1126/science.1183604.

Wakker, J. (1887). *Onderzoek der Ziekten van Hyacinthen en Andere Bol-en Knolgewassen Gedurende de Jaren 1883, 1884 en 1885. Gedrukt voor de leden der Algemeene vereeniging voor bloembollencultuur. Haar- lem, Netherlands*.

Wang, C., Fan, Y., Zheng, C., Qin, T., Zhang, X., and Zhao, K. (2014). High-resolution genetic mapping of rice bacterial blight resistance gene Xa23. *Mol. Genet. Genomics* 289, 745–753. doi:10.1007/s00438-014-0848-y.

Wang, C., Zhang, X., Fan, Y., Gao, Y., Zhu, Q., Zheng, C., *et al.* (2015a). XA23 Is an executor r protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol. Plant* 8, 290–302. doi:10.1016/j.molp.2014.10.010.

Wang, G., Roux, B., Feng, F., Guy, E., Li, L., Li, N., *et al.* (2015b). The Decoy Substrate of a Pathogen Effector and a Pseudokinase Specify Pathogen-Induced Modified-Self Recognition and Immunity in Plants. *Cell Host Microbe* 18, 285–295. doi:10.1016/j.chom.2015.08.004.

Wang, J., Zeng, X., Tian, D., Yang, X., Wang, L., and Yin, Z. (2018a). The pepper Bs4C proteins are localized to the endoplasmic reticulum (ER) membrane and confer disease resistance to bacterial blight in transgenic rice. *Mol. Plant Pathol.* 19, 2025–2035. doi:10.1111/mpp.12684.

Wang, L., Albert, M., Einig, E., Fürst, U., Krust, D., and Felix, G. (2016). The pattern-recognition receptor CORE of Solanaceae detects bacterial cold-shock protein. *Nat. Plants* 2, 1–9. doi:10.1038/nplants.2016.185.

Wang, L., Einig, E., Almeida-Trapp, M., Albert, M., Fliegmann, J., Mithöfer, A., *et al.* (2018b). The systemin receptor SYR1 enhances resistance of tomato against herbivorous insects. *Nat. Plants* 4, 152–156. doi:10.1038/s41477-018-0106-0.

Wang, L., Rinaldi, F. C., Singh, P., Doyle, E. L., Dubrow, Z. E., Tran, T. T., *et al.* (2017). TAL Effectors Drive Transcription Bidirectionally in Plants. *Mol. Plant* 10, 285–296. doi:10.1016/j.molp.2016.12.002.

Wang, Y., and Liu, J. H. (2012). Exogenous treatment with salicylic acid attenuates occurrence of citrus canker in susceptible navel orange (Citrus sinensis Osbeck). *J. Plant Physiol.* 169, 1143–1149. doi:10.1016/j.jplph.2012.03.018.

Weber, E., Gruetzner, R., Werner, S., Engler, C., and Marillonnet, S. (2011). Assembly of designer tal effectors by golden gate cloning. *PLoS One* 6. doi:10.1371/journal.pone.0019722.

Welch, R. M., House, W. A., Beebe, S., and Cheng, Z. (2000). Genetic selection for enhanced

bioavailable levels of iron in bean (Phaseolus vulgaris L.) seeds. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3576–3580. doi:10.1021/jf0000981.

Weller, M. D., and Saettler, A. Q. (1980). colonization and distribution of X.phaseoli and X.phaseoli var. fuscans in field-grown Navy Beans. *Ecol. Epidemiol.* 70, 500–506.

Weßling, R., Epple, P., Altmann, S., He, Y., Yang, L., Henz, S. R., *et al.* (2014). Convergent targeting of a common host protein-network by pathogen effectors from three kingdoms of life. *Cell Host Microbe* 16, 364–375. doi:10.1016/j.chom.2014.08.004.

Wilkins, K. E., Booher, N. J., Wang, L., and Bogdanove, A. J. (2015). TAL effectors and activation of predicted host targets distinguish Asian from African strains of the rice pathogen Xanthomonas oryzae pv . oryzicola while strict conservation suggests universal importance of five TAL effectors. *Front. Plant Sci.* 6, 1–15. doi:10.3389/fpls.2015.00536.

Willmann, R., Lajunen, H. M., Erbs, G., Newman, M. A., Kolb, D., Tsuda, K., *et al.* (2011). Arabidopsis lysin-motif proteins LYM1 LYM3 CERK1 mediate bacterial peptidoglycan sensing and immunity to bacterial infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 19824–19829. doi:10.1073/pnas.1112862108.

Wirthmueller, L., Zhang, Y., Jones, J. D. G., and Parker, J. E. (2007). Nuclear Accumulation of the Arabidopsis Immune Receptor RPS4 Is Necessary for Triggering EDS1-Dependent Defense. *Curr. Biol.* 17, 2023–2029. doi:10.1016/j.cub.2007.10.042.

Wood, A. J., Lo, T., Zeitler, B., Pickle, C. S., Edward, J., Lee, A. H., *et al.* (2011). Targeted Genome Editing Across Species Using ZFNs and TALENs. *Science.* 333, 307. doi:10.1126/science.1207773.

Wrzaczek, M., Vainonen, J. P., Stael, S., Tsiatsiani, L., Help-Rinta-Rahko, H., Gauthier, A., *et al.* (2015). GRIM REAPER peptide binds to receptor kinase PRK 5 to trigger cell death in Arabidopsis . *EMBO J.* 34, 55–66. doi:10.15252/embj.201488582.

Wu, D., von Roepenack-Lahaye, E., Buntru, M., de Lange, O., Schandry, N., Pérez-Quintero, A. L., *et al.* (2019). A Plant Pathogen Type III Effector Protein Subverts Translational Regulation to Boost Host Polyamine Levels. *Cell Host Microbe* 26, 638-649.e5. doi:10.1016/j.chom.2019.09.014.

Wu, H., Shen, Y., Hu, Y., Tan, S., and Lin, Z. (2011). A phytocyanin-related early nodulin-like gene, BcBCP1, cloned from Boea crassifolia enhances osmotic tolerance in transgenic tobacco. *J. Plant Physiol.* 168, 935–943. doi:10.1016/j.jplph.2010.09.019.

Wu, L., Mei, L. G., Sreekala, C., and Yin, Z. (2008). XA27 depends on an amino-terminal signal-anchor-like sequence to localize to the apoplast for resistance to Xanthomonas oryzae pv oryzae. *Plant Physiol.* 148, 1497–1509. doi:10.1104/pp.108.123356.

Xie, W., Khanal, R., McClymont, S., Stonehouse, R., Bett, K., Yu, K., *et al.* (2017). Interaction

of quantitative trait loci for resistance to common bacterial blight and pathogen isolates in Phaseolus vulgaris L. *Mol. Breed.* 37. doi:10.1007/s11032-017-0657-1.

Xie, W., Yu, K., Pauls, K. P., and Navabi, A. (2012). Application of image analysis in studies of quantitative disease resistance, exemplified using common bacterial blight-common bean pathosystem. *Phytopathology* 102, 434–442. doi:10.1094/PHYTO-06-11-0175.

Xu, L., Zhu, L., Tu, L., Liu, L., Yuan, D., Jin, L., *et al.* (2011). Lignin metabolism has a central role in the resistance of cotton to the wilt fungus Verticillium dahliae as revealed by RNA-Seq-dependent transcriptional analysis and histochemistry. *J. Exp. Bot.* 62, 5607–5621. doi:10.1093/jxb/err245.

Xu, Z., Xu, X., Gong, Q., Li, Z., Li, Y., Wang, S., *et al.* (2019). Engineering Broad-Spectrum Bacterial Blight Resistance by Simultaneously Disrupting Variable TALE-Binding Elements of Multiple Susceptibility Genes in Rice. *Mol. Plant* 12, 1434–1446. doi:10.1016/j.molp.2019.08.006.

Xue, J., Lu, Z., Liu, W., Wang, S., Lu, D., Wang, X., *et al.* (2020). The genetic arms race between plant and Xanthomonas : lessons learned from TALE biology. *Sci China Life Sci* 63.

Yamaguchi, Y., Huffaker, A., Bryan, A. C., Tax, F. E., and Ryan, C. A. (2010). PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in Arabidopsis. *Plant Cell* 22, 508–522. doi:10.1105/tpc.109.068874.

Yang, B., Sugio, A., and White, F. F. (2006). Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103, 10503–8. doi:10.1073/pnas.0604088103.

Yang, B., and White, F. F. (2004). Diverse members of the AvrBs3/PthA family of type III effectors are major virulence determinants in bacterial blight disease of rice. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 17, 1192–1200. doi:10.1094/MPMI.2004.17.11.1192.

Yang, B., Zhu, W., Johnson, L. B., and White, F. F. (2000). The virulence factor AvrXa7 of Xanthomonas oryzae pv. oryzae is a type III secretion pathway-dependent nuclear-localized double-stranded DNA-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97, 9807–9812. doi:10.1073/pnas.170286897.

Yang, J., Zhang, Y., Yuan, P., Zhou, Y., Cai, C., Ren, Q., *et al.* (2014). Complete decoding of TAL effectors for DNA recognition. *Cell Res.* 24, 628–631. doi:10.1038/cr.2014.19.

Yang, S. F., Ku, H. S., and Pratt, H. K. (1966). Ethylene production from pethionine as mediated by Flavin mononucleotide and light. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 24, 739–743. doi:10.1016/0006-291x(66)90387-1.

Yang, Y., and Gabriel, D. w (1995). Xanthomonas Avirulence/Pathogenicity Gene Family

Encodes Functional Plant Nuclear Targeting Signals. *Am. Phytopathol. Soc.*

Yanik, M., Alzubi, J., Lahaye, T., Cathomen, T., Pingoud, A., and Wende, W. (2013). TALE-PvuII fusion proteins - Novel tools for gene targeting. *PLoS One* 8, 1–13. doi:10.1371/journal.pone.0082539.

Yu, K., Park, S. J., and Poysa, V. (1999). Abundance and variation of microsatellite DNA sequences in beans (Phaseolus and Vigna). *Genome* 42, 27–34. doi:10.1139/g98-100.

Yu, K., Park, S. J., and Poysa, V. (2000a). Marker-assisted selection of common beans for resistance to common bacterial blight: Efficacy and economics. *Plant Breed.* 119, 411–415. doi:10.1046/j.1439-0523.2000.00514.x.

Yu, K., Park, S. J., Poysa, V., and Gepts, P. (2000b). Integration of Simple Sequence Repeat (SSR) Markers Into a Molecular Linkage Map of Common Bean (Phaseolus vulgaris L.). *J. Hered.* 91, 429–434.

Yu, K., Park, S. J., Zhang, B., Haffner, M., and Poysa, V. (2004). An SSR marker in the nitrate reductase gene of common bean is tightly linked to a major gene conferring resistance to common bacterial blight. *Euphytica* 138, 89–95. doi:10.1023/B:EUPH.0000047077.75285.60.

Yu, K., Shi, C., and Zhang, B. (2012). Development and Application of Molecular Markers to Breed Common Bean (Phaseolus vulgaris L .) for Resistance to Common Bacterial Blight (CBB). *Appl. Photosynth.*, 365–388.

Yu, X., Feng, B., He, P., and Shan, L. (2017). From Chaos to Harmony: Responses and Signaling upon Microbial Pattern Recognition. *Annu Rev Phytopathol.* 55, 109–137. doi:10.1016/j.physbeh.2017.03.040.

Yu, Y., Streubel, J., Balzergue, S., Champion, A., Boch, J., Koebnik, R., *et al.* (2011). Colonization of Rice Leaf Blades by an African Strain of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Depends on a New TAL Effector That Induces the Rice Nodulin-3 Os11N3 Gene. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 24, 1102–13. doi:10.1094/MPMI-11-10-0254.

Yu, Z. H., Stall, R. E., and Vallejos, C. E. (1998). Detection of genes for resistance to common bacterial blight of beans. *Crop Sci.* 38, 1290–1296. doi:10.2135/cropsci1998.0011183X003800050028x.

Yuan, M., Ke, Y., Huang, R., Ma, L., Yang, Z., Chu, Z., *et al.* (2016). A host basal transcription factor is a key component for infection of rice by TALE-carrying bacteria. *Elife* 5, 1–17. doi:10.7554/eLife.19605.

Yun, M. H., Torres, P. S., Oirdi, M. El, Rigano, L. A., Gonzalez-lamothe, R., Marano, R., *et al.* (2006). Xanthan Induces Plant Susceptibility by Suppressing callose deposition. *Plant Physiol.* 141, 178–187. doi:10.1104/pp.105.074542.enzymes.

Zapata, M. (2006). A proposal for a uniform screening procedure for the reennhouse evalualtion of variability of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and resistance on leaves of Phaseolus vulgaris. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.*, 213–214.

Zapata, M., Beaver, J. S., and Porch, T. G. (2010). Dominant gene for common bean resistance to common bacterial blight caused by Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli. *Euphytica* 179, 373–382. doi:10.1007/s10681-010-0313-x.

Zaumeyer, W. J., and Thomas, H. R. (1957). A monographic study of bean diseases and methods for their control. *Tech. Bull. 169625, United States Dep. Agric. Econ. Res. Serv.*

Zenbayashi-Sawata, K., Ashizawa, T., and Koizumi, S. (2005). Pi34-AVRPi34: A new gene-for-gene interaction for partial resistance in rice to blast caused by Magnaporthe grisea. *J. Gen. Plant Pathol.* 71, 395–401. doi:10.1007/s10327-005-0221-4.

Zeng, X., Tian, D., Gu, K., Zhou, Z., Yang, X., Luo, Y., *et al.* (2015). Genetic engineering of the Xa10 promoter for broad-spectrum and durable resistance to Xanthomonas oryzae pv . oryzae. *Plant Biotechnol. J.*, 993–1001.

Zhang, F., Cong, L., Lodato, S., Kosuri, S., Church, G., and Arlotta, P. (2011). Programmable Sequence-Specific Transcriptional Regulation of Mammalian Genome Using Designer TAL Effectors. *Nat. Biotechnol.* 29, 149–153. doi:10.1038/nbt.1775.Programmable.

Zhang, J., Yin, Z., and White, F. (2015). TAL effectors and the executor R genes. *Front. Plant Sci.* 6, 1–9.

Zhang, L., Kars, I., Essenstam, B., Liebrand, T. W. H., Wagemakers, L., Elberse, J., *et al.* (2014). Fungal endopolygalacturonases are recognized as microbe-associated molecular patterns by the arabidopsis receptor-like protein RESPONSIVENESS TO BOTRYTIS POLYGALACTURONASES. *Plant Physiol.* 164, 352–364. doi:10.1104/pp.113.230698.

Zhang, W., Fraiture, M., Kolb, D., Löffelhardt, B., Desaki, Y., Boutrot, F. F. G., *et al.* (2013). Arabidopsis RECEPTOR-LIKE PROTEIN30 and receptor-like kinase SUPPRESSOR OF BIR1-1/EVERSHED mediate innate immunity to necrotrophic fungi. *Plant Cell* 25, 4227–4241. doi:10.1105/tpc.113.117010.

Zhao, B. Y., Ardales, E., Brasset, E., Claflin, L. E., Leach, J. E., and Hulbert, S. H. (2004). The Rxo1/Rba1 locus of maize controls resistance reactions to pathogenic and non-host bacteria. *Theor. Appl. Genet.* 109, 71–79. doi:10.1007/s00122-004-1623-y.

Zhou, J. M., and Chai, J. (2008). Plant pathogenic bacterial type III effectors subdue host responses. *Curr. Opin. Microbiol.* 11, 179–185. doi:10.1016/j.mib.2008.02.004.

Zhou, J., Peng, Z., Long, J., Sosso, D., Liu, B., Eom, J. S., *et al.* (2015). Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. *Plant J.* 82, 632–643. doi:10.1111/tpj.12838.

Zhou, L., Zhang, L. H., Cámara, M., and He, Y. W. (2016). The DSF Family of Quorum Sensing Signals: Diversity, Biosynthesis, and Turnover. *Trends Microbiol.* 25, 293–303. doi:10.1016/j.tim.2016.11.013.

Zhu, J., Wu, J., Wang, L., Blair, M. W., Zhu, Z., and Wang, S. (2016). QTL and candidate genes associated with common bacterial blight resistance in the common bean cultivar Longyundou 5 from China. *Crop J.* 4, 344–352. doi:10.1016/j.cj.2016.06.009.

Zhu, W., Yang, B., Chittoor, J. M., Johnson, L. B., and White, F. F. (1998). AvrXa10 contains an acidic transcriptional activation domain in the functionally conserved C terminus. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11, 824–832. doi:10.1094/MPMI.1998.11.8.824.

Zhu, W., Yang, B., Wills, N., Johnson, L. B., and White, F. F. (1999). The C terminus of AvrXa10 can be replaced by the transcriptional activation domain of VP16 from the herpes simplex virus. *Plant Cell* 11, 1665–1674. doi:10.1105/tpc.11.9.1665.

Zipfel, C., Kunze, G., Chinchilla, D., Caniard, A., Jones, J. D. G., Boller, T., *et al.* (2006). Perception of the Bacterial PAMP EF-Tu by the Receptor EFR Restricts Agrobacterium-Mediated Transformation. *Cell* 125, 749–760. doi:10.1016/j.cell.2006.03.037.

Zurbriggen, M. D., Carrillo, N., and Hajirezaei, M. R. (2010). ROS signaling in the hypersensitive response: When, where and what for? *Plant Signal. Behav.* 5, 393–396. doi:10.4161/psb.5.4.10793.

DOCTORAT ECOLOGIE BRETAGNE GEOSCIENCES LOIRE AGRONOMIE ALIMENTATION

l'institut Agro agriculture • alimentation • environnement

AGRO CAMPUS OUEST

Titre : Rôle des effecteurs TAL dans l'interaction *Xanthomonas*- haricot et apports dans la lutte contre la graisse commune.

Mots clés : *Xanthomonas*, haricot, effecteurs TAL, résistance

Résumé : : La pathogénie des bactéries du genre *Xanthomonas* repose en partie sur leur capacité à injecter des effecteurs TAL (transcription activator-like) dans la cellule végétale. Ces effecteurs agissent comme des facteurs de transcription eucaryotes en induisant des gènes de sensibilité chez la plante hôte afin de favoriser l'infection. L'objectif de cette thèse est de mieux comprendre l'interaction *Xanthomonas*-haricot, et notamment le rôle des effecteurs TAL dans la graisse commune causée par *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* et *X. citri* pv. *fuscans*. Pour cela, une étude transcriptomique a été menée pour évaluer l'impact de *Xanthomonas* sur le transcriptome du haricot en contextes résistant et sensible. Cette étude a permis de révéler des gènes et des voies métaboliques en lien avec la résistance ou la sensibilité de la plante. A l'aide d'une combinaison d'approches transcriptomiques et de tests de pouvoir pathogène, les cibles potentielles de deux effecteurs TAL ont été étudiées. Ces approches ont montré que XfuTAL1 et XfuTAL2 étaient importants pour l'agressivité de Xanthomonas et que XfuTAL1 induisait le gène de sensibilité *PvAIL1* codant un facteur de transcription. Cette étude a aussi révélé que la structure atypique de XfuTAL2 augmentait sa capacité d'accroche à l'ADN et jouerait potentiellement un rôle dans la pathogénie. Par ailleurs, une nouvelle méthode de phénotypage a été mise au point pour évaluer l'agressivité de *Xanthomonas* sur haricot. Ensemble, ces découvertes permettent d'apporter de nouvelles perspectives pour le développement de résistances à *Xanthomonas* chez le haricot et soulignent l'importance des effecteurs TAL dans ce pathosystème.

Title : Role of TAL effectors in *Xanthomonas*-bean interaction and contribution to common bacterial blight management

Keywords : *Xanthomonas*, common bean, TAL effectors, resistance

Abstract : The pathogenicity of bacteria from the genus *Xanthomonas* is partly based on their ability to inject TAL effectors (transcription activator-like effectors) inside the plant cell. TAL effectors act as eukaryotic transcription factors by inducing the transcription of susceptibility genes in the host plant to promote infection. The objective of this thesis is to better understand *Xanthomonas*-bean interaction and more particularly the role of TAL effectors in common bacterial blight of bean caused by *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *X. citri* pv. *fuscans*. To this end, transcriptomic analyses were conducted to evaluate the impact of *Xanthomonas* on the bean transcriptome in resistant and susceptible contexts. This study revealed genes and metabolic pathways related to resistance or susceptibility of the plant. Using a combination of transcriptomics and pathogenicity tests, the potential targets of two TAL effectors were studied. These approaches showed that XfuTAL1 and XfuTAL2 were important for the aggressiveness of *Xanthomonas*, and that XfuTAL1 induced the *PvAIL1* susceptibility gene encoding a transcription factor. This study also revealed that the atypical structure of XfuTAL2 increased its ability to bind DNA and potentially participated to pathogenicity. In addition, a new phenotyping method was developed to evaluate the aggressiveness of Xanthomonas on bean. Together, these findings provide new insights into the development of *Xanthomonas* resistance in beans and highlight the importance of TAL effectors in this pathosystem.