



HAL
open science

Caractérisation de nouvelles sources de résistance aux souches africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

Marlène Lachaux

► To cite this version:

Marlène Lachaux. Caractérisation de nouvelles sources de résistance aux souches africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz. Sciences agricoles. Université de Montpellier, 2022. Français. NNT : 2022UMONG011 . tel-03770205

HAL Id: tel-03770205

<https://theses.hal.science/tel-03770205>

Submitted on 6 Sep 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.

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Biologie des Interactions

École doctorale GAIA

Unité de recherche PHIM, IRD

Caractérisation de nouvelles sources de résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

Présentée par Marlène LACHAUX

Le 09 Mars 2022

Sous la direction de Boris SZUREK
et Mathilde HUTIN

Devant le jury composé de

Mme Alia DELLAGI, Professeure, AgroParisTech Versailles

M. Roland KÖLLIKER, Directeur de recherche, Agroscope Zürich

Mme Claire Neema, Professeure, L'Institut Agro Montpellier, Présidente du jury

M. Nicolas CHEN, Chargé de recherche, Agrocampus Ouest Angers

Mme Mathilde HUTIN, Chargée de recherche, IRD Montpellier

M. Boris SZUREK, Directeur de recherche, IRD Montpellier

Mme Laurence ALBAR, Chargée de recherche, IRD Montpellier

Rapporteur

Rapporteur

Examinatrice

Examineur

Co-encadrante

Directeur de thèse

Invitée



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

Remerciements

Tout d'abord je souhaiterais remercier mes deux encadrants, Boris SZUREK et Mathilde HUTIN, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse. Cela fait maintenant plus de 3 ans que l'on se connaît, et au cours de ces dernières années j'ai beaucoup appris grâce à vous deux. **Boris**, merci de m'avoir pris sous ton aile dès mon stage de master 2, où je n'étais encore qu'une novice dans le monde de la science, et de m'avoir transmis ton savoir. Je te remercie du temps que tu m'as accordé et de ta bienveillance. **Mathilde**, avec toi une confiance mutuelle s'est instaurée petit à petit et je suis heureuse de voir comment les choses ont évolué entre nous. Je te remercie de m'avoir accompagné jusqu'ici, de m'avoir aidé tout au long de ce chemin, parfois semé d'embûches il faut le dire.

Ensuite, je remercie les membres de mon jury : Alia DELLAGI, Roland KÖLLIKER, Claire NEEMA, Nicolas CHEN et Laurence ALBAR, pour leur présence, leur temps et pour leur retour sur mon manuscrit.

Merci à tous les membres de mon équipe (XPLAIN) sans qui cette expérience n'aurait pas été la même : Florence, Lionel, Ralf, Sébastien; à mes copains de travail, qui pour certains sont devenus de vrais amis, d'avoir égayé mes moments de labo : Coline, Carlos, Carolina, Gabriel, Valentine, Dario, Senne, Laurent. Une petite pensée particulière à Leonor et Angeliki; jamais je n'aurai pensé en si peu de temps créer des liens aussi forts et garder ce lien même à distance et sur différents fuseaux horaires ! Merci pour tout le soutien que vous m'avez apporté pendant cette dernière année de thèse. Vous êtes merveilleuses, et je vous aime.

Merci à Clotilde, Cécile et Nathalie, vous êtes des femmes fantastiques, ne changez jamais. Ces moments café, accompagnés de petits gâteaux et de discussions, m'ont été d'un grand réconfort.

Merci à Mathias, à Julie, à Ndomassi, et à Alvaro pour m'avoir aidé dans mes analyses (bioinformatique, génétique, cartographie, ...), et pour les moments conviviaux passés ensemble.

Un merci à l'équipe ABIP/BRIO, merci à chacun d'entre vous (Gilles, Lionel, Pierre, Adrian, Eoghan, Ludivine, Nicolas, Isabelle) pour avoir partagé avec moi vos points de vue, perspectives de travail, et quelques verres aussi.

Merci à tous les doctorant.e.s avec qui j'ai passé ces 3-4 dernières années: Juliette, Lison, Fanni, Théo, Léo Paul, Anne-Sophie, Adrian, Eoghan; mais aussi aux autres gens du labo (ou pas) comme Fiona, Marie, Helena, Justine, et bien d'autres encore.

Merci à Sandrine F. de m'avoir pris sous ton aile lors de mon M2. Merci à Audrey V. pour tous les conseils que tu as pu me donner au cours de ces années. Merci à Morgane C. et à Nelly F. , qui ont apportés joie et bonheur à la fin de ma thèse. Morgane, mon double, merci de m'avoir rappelé que j'étais capable de tout. Nelly, je te souhaite plein de courage pour la fin de ta thèse, tu vas tout déchirer !

Je voudrais dire merci à toutes les personnes, encore présentes à l'IRD et celles qui ne le sont plus, qui m'ont sourit dans les couloirs, qui m'ont aidées dans mes travaux de recherche, toutes les personnes qui m'ont soutenues jusqu'au bout.

Merci à ma meilleure amie Jessy, qui même à distance était disponible H24, pour m'entendre raconter ma vie, râler, pleurer, etc. Merci de ton soutien sans faille. Comme dirait quelqu'un de

sûrement connu : "Une meilleure amie c'est une sœur que la vie a oublié de nous donner", alors même si j'en ai déjà 2, une 3e sœur n'a jamais été de refus; je t'aime.

Pour finir, je pense qu'il est essentiel de remercier ma famille, et sans vouloir trop sembler mélodramatique... vous êtes ma force au quotidien, mon soutien à toute épreuve, et je sais que je suis chanceuse de vous avoir à mes côtés. Merci d'avoir cru en moi jusqu'au bout et de m'avoir soutenue, je vous aime.

Acknowledgments

First of all I would like to thank my two supervisors, Boris SZUREK and Mathilde HUTIN, for giving me the opportunity to do this PhD. We have known each other for more than 3 years now, and during these last years I have learned a lot thanks to you both. **Boris**, thank you for taking me under your wing during my master 2 internship, when I was still a novice in the world of science, and for passing on your knowledge. I thank you for the time you gave me and for your kindness. **Mathilde**, with you a mutual trust has been established little by little and I am happy to see how things have evolved between us. I thank you for having accompanied me until now, for having helped me along this path, sometimes full of pitfalls it must be said.

Then, I thank the members of my jury: Alia DELLAGI, Roland KÖLLIKER, Claire NEEMA, Nicolas CHEN and Laurence ALBAR, for their presence, their time and for their feedback on my manuscript.

Thanks to all the members of my team (XPLAIN) without whom this experience would not have been the same: Florence, Lionel, Ralf, Sébastien; to my work mates, some of whom have become real friends, for having brightened up my lab moments: Coline, Carlos, Carolina, Gabriel, Valentine, Dario, Senne, Laurent.

A special thought to Leonor and Angeliki; I would never have thought in such a short time to create such strong links and to keep this link even at distance and on different time zones ! Thank you for all the support you have given me during this last year of my thesis. You are wonderful, and I love you.

Thanks to Clotilde, Cécile and Nathalie, you are fantastic women, never change. These coffee moments, accompanied by small cakes and discussions, were a great comfort to me.

Thanks to Mathias, Julie, Ndomassi, and Alvaro for helping me in my analyses (bioinformatics, genetics, cartography, ...), and for the convivial moments spent together.

Thanks to the ABIP/BRIO team, thanks to each of you (Gilles, Lionel, Pierre, Adrian, Eoghan, Ludivine, Nicolas, Isabelle) for sharing with me your points of view, work perspectives, and some drinks too.

Thanks to all the PhD students with whom I spent the last 3-4 years: Juliette, Lison, Fanni, Théo, Léo Paul, Anne-Sophie, Adrian, Eoghan; but also to the other people of the lab (or not) like Fiona, Marie, Helena, Justine, and many others.

Thanks to Sandrine F. for taking me under your wing during my M2. Thank you to Audrey V. for all the advice you gave me during these years. Thanks to Morgane C. and Nelly F. who brought joy and happiness at the end of my thesis. Morgane, my double, thank you for reminding me that I was capable of anything. Nelly, I wish you a lot of courage for the end of your thesis, you are going to tear it up!

I would like to say thank you to all the people, still present at IRD and those who are no longer, who smiled at me in the corridors, who helped me in my research work, all the people who supported me until the end.

Thank you to my best friend Jessy, who even from distance was available H24, to hear me tell my life story, to grumble, to cry, etc. Thank you for your unfailing support. As someone famous would

say: "A best friend is a sister that life forgot to give us", so even if I already have 2, a 3rd sister was never a bad thing; I love you.

Finally, I think it is essential to thank my family, and without wanting to sound too melodramatic... you are my daily strength, my support at all times, and I know I am lucky to have you by my side. Thank you for believing in me until the end and for supporting me, I love you.

Résumé

La bactériose vasculaire du riz, causée par la bactérie à gram-négatif *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), est une des maladies les plus dévastatrices des cultures de riz en Afrique de l'Ouest et en Asie. Grâce à son système de sécrétion de type III, *Xoo* injecte ses effecteurs de type TAL ("Transcription Activator-Like") au sein de la cellule végétale hôte. Grâce à leurs signaux de localisation nucléaire (NLS), les TALE sont ensuite importés au noyau où ils ont la capacité de se fixer, par le biais de leur région centrale composée de répétitions en tandem, au promoteur d'un gène hôte au niveau d'une séquence appelée EBE (pour "Effector Binding Element"), et d'initier la transcription via leur domaine d'activation (AD). *Xoo* est ainsi capable de moduler l'expression des gènes de la plante en détournant sa machinerie transcriptionnelle et d'induire des gènes dits de sensibilité (*S*) qui favorisent le développement de la bactérie et donc de la maladie. Dans certains cas, les TALE peuvent activer des gènes dits exécuteur (*E*) dont l'expression entraîne des réactions de défenses de la plante et provoque la résistance. Des analyses de diversité génétique ont montré que *Xoo* comprend deux lignées correspondant aux souches Africaines et Asiatiques. Elles se distinguent notamment par le nombre de gènes *tal* qu'elles possèdent, mais aussi par le type de résistance qu'elles élicitent. De fait, aucune des races identifiées en Afrique n'a été retrouvée en Asie.

L'objectif de cette thèse était d'identifier des sources de résistance chez le riz afin d'apporter de nouvelles stratégies de contrôle de la bactériose vasculaire du riz en Afrique. Des analyses préliminaires avaient permis de mettre en évidence par une approche de gain-de-fonction, plusieurs TALE de la souche Malienne MAI1 ayant une activité potentielle d'avirulence sur les variétés de riz IR64, CT13432 et FKR47N. Afin de confirmer ces résultats, une approche par perte-de-fonction a été entreprise, consistant à cribler une banque de mutants BAI3 Δ *tal* générés dans la souche Burkinabè BAI3, dont le TALome (répertoire de gènes *tal*) est très proche de celui de MAI1, sur chacune des trois variétés résistantes. Ces travaux ont permis de valider le rôle d'avirulence de TalD et TalI sur les variétés IR64 et CT13432, respectivement. Il a également été démontré que la résistance de CT13432 aux souches MAI1 et BAI3 résultait de la combinaison de deux mécanismes de résistance, l'un reposant sur l'induction, médiée par TalI, d'un gène exécuteur encore inconnu, et l'autre sur un allèle du gène de résistance *Xa1*. Dans un second temps, afin d'approfondir nos connaissances sur la résistance conférée par IR64 aux souches Africaines de *Xoo*, le criblage d'une population de lignées recombinantes de génération F₁₁, provenant du croisement entre la variété résistante IR64 et la variété sensible Azucena, a été mené. Cette étude a permis de confirmer deux QTL, *qABB-7* et *qABB-11*, préalablement rapportés dans une autre étude, et d'identifier quatre nouveaux QTL de résistance aux souches Africaines de *Xoo*. Pour finir, des analyses de type RNAseq ont été réalisées sur la variété résistante IR64 et la variété sensible Nipponbare, dont les génomes séquencés sont disponibles, afin de caractériser leur transcriptome en réponse à des souches Africaines de *Xoo*. L'activité d'avirulence de TalD chez IR64 ayant été démontrée, une comparaison de l'expression différentielle des gènes induits par MAI1 et BAI3 avec le mutant BAI3 Δ *talD* a été effectuée, permettant d'identifier de potentiels gènes *E* candidats expliquant la résistance TalD-dépendante de IR64. Ces travaux représentent une première étape dans le développement de nouvelles stratégies basées sur le déploiement de sources de résistance durables afin de lutter contre la bactériose vasculaire du riz en Afrique.

Abstract

Bacterial Leaf Blight (BLB), caused by the gram-negative bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), is one of the most devastating diseases of rice in West Africa and Asia. *Xoo* injects through its type-III secretion system a full cocktail of TAL ("Transcription Activator-Like") effectors into the host plant cell. By means of their nuclear localization signals (NLS) TALEs are next imported into the host nucleus where they bind through central tandem repeats to host promoter targets at a sequence called EBE ("Effector Binding Element"), with the final aim of initiating gene transcription thanks to their activation domain (AD). *Xoo* is thus able to modulate the expression of plant genes by hijacking the plant transcriptional machinery and induce so-called susceptibility (*S*) genes that favor the development of the bacterium and disease consequently. In some cases, TALEs can activate so-called executor (*E*) genes whose expression leads to plant defense reactions and results in resistance. Genetic diversity analyses have shown that *Xoo* is comprised of two lineages corresponding to strains from Africa for one and Asian strains for the other. African and Asian *Xoo* differ in their number of *tal* genes, but also in the type of resistance they elicit. Noteworthy, none of the races identified in Africa have been found in Asia.

The objective of this thesis was to identify sources of resistance in rice in order to provide new strategies for the control of BLB in Africa. In a gain-of-function approach, preliminary analyses identified several TALEs of the Malian strain MAI1 with potential avirulence activity on the rice varieties IR64, CT13432 and FKR47N. To further confirm these results, a loss-of-function approach was undertaken, consisting in the inoculation of a library of BAI3 Δ *tal* mutants deriving from the *Xoo* Burkinabe strain BAI3, whose TALome (*tal* genes repertoire) is very similar to that of MAI1, on each of the three resistant varieties. This work validated the avirulence role of TalD and TalI on the matching rice varieties IR64 and CT13432, respectively. We also showed that the resistance exhibited by CT13432 against MAI1 and BAI3 results of the combination of two resistance mechanisms, one based on the TalI-mediated induction of an as yet unknown executor gene, and the other on an allele of the *Xa1* resistance gene. In a second step, in order to deepen our knowledge on the resistance conferred by IR64 to African *Xoo* strains, the screening of a population of recombinant inbred lines of F₁₁ generation, resulting from the cross between the resistant variety IR64 and the susceptible variety Azucena, was conducted. This study confirmed two QTL, *qABB-7* and *qABB-11*, previously reported in another study, and also identified four new QTL of resistance against African *Xoo* strains. Finally, RNAseq analyses were performed on the resistant variety IR64 and the susceptible variety Nipponbare, which genomes are sequenced, to characterize their transcriptome in response to African *Xoo*. The avirulence activity of TalD in IR64 being demonstrated, a comparison of the differential expression of genes induced by MAI1 and BAI3 with the BAI3 Δ *talD* mutant was performed, allowing the identification of potential candidate *E*-genes induced by TalD in IR64. This work represents a first step in the development of new strategies based on the deployment of sustainable sources of resistance to control BLB in Africa.

Table des figures

Figure 1. Modèle en Zig-Zag de coévolution des gènes de résistance de plantes et des effecteurs d'agents pathogènes.....	v
Figure 2. Reconnaissance des bactéries par les PRRs (Plant Pattern-Recognition Receptors).....	vi
Figure 3 . Structures des récepteurs NB-LRRs chez les plantes.....	vii
Figure 4. Deux modèles de liaison ATP/ADP des NB-LRRs chez les plantes.....	vii
Figure 5. Trois modèles de reconnaissance des effecteurs par les NB-LRRs des plantes.....	viii
Figure 6. Analyse par "single marker regression" (SMR) d'un caractère hypothétique dans une population F ₂ simulée de 100 individus.....	ix
Figure 7. Avantage de l'analyse "simple interval mapping" (SIM) par rapport au SMR.....	x
Figure 8. Production et superficie mondiales de riz paddy entre 2009 et 2018.....	xi
Figure 9. Production et importation du riz en Afrique de l'ouest.....	xi
Figure 10. Schéma de l'origine du riz domestiqué d'après (Civan et al. 2015).....	xii
Figure 11. Les structures de surface des bactéries participant à leur pouvoir pathogène.....	xiii
Figure 12. Représentation schématique d'un système de sécrétion de type III (SST3) présent chez les bactéries phytopathogènes (Buttner and He 2009).....	xiv
Figure 13. Représentation schématique des systèmes de sécrétions présents chez <i>Xanthomonas</i> spp. (Buttner and Bonas 2009).....	xv
Figure 14. Structure type d'un effecteur TAL de <i>Xanthomonas</i>	xv
Figure 15. Modèle de la spécificité de l'interaction de l'ADN-cible et des TALE.....	xvi
Figure 16. Effecteurs TAL de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> en interaction avec la cellule végétale..	xviii
Figure 17. Gènes OsSWEET du riz répartis en cinq clades en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre.....	xix
Figure 18. Convergence fonctionnelle des effecteurs bactériens TAL dans différents pathosystèmes et leurs cibles végétales.....	xx
Figure 19. Symptômes typiques provoquées par Xoo et Xoc sur le riz, et leur localisation cellulaire lors de l'infection.....	xxii
Figure 20. "Minimum spanning tree" d'une collection mondiale de <i>Xanthomonas oryzae</i>	xxiii
Figure 21. Représentation et alignement des séquences en RVD des TALE des souches Africaines MAI1, BAI3 et CFBP1947 de Xoo.....	xxiv
Figure 22. Cartographie fine du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Wang et al. 2021).....	lxxxix
Figure 23. Complémentation fonctionnelle du gène candidat <i>Xa7</i> . D'après (Wang et al. 2021).....	lxxxiv
Figure 24. Clonage positionnel du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Chen et al. 2021).....	lxxxv
Figure 25. Cartographie fine et identification du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Luo et al. 2021).....	lxxxvi
Figure 26. Mécanismes d'évolution des effecteurs TAL. D'après (Perez-Quintero and Szurek 2019)..	lxxxvi
Figure 27. Recombinaison de RVD entre les effecteurs TAL des souches MAI1 et BAI3. D'après (Tran et al. 2018).....	lxxxvii
Figure 28. Les différents profils TAL-RFLP identifiés au sein de la collection CIX de l'IRD. D'après (Diallo et al. in prep).....	lxxxviii

Article 1

Figure 1. BAI3 Δ talD loses avirulence on IR64 but BAI3 Δ talI and BAI3 Δ talF do not on CT13432 and FKR47N.....	xxviii
Figure 2. The resistance of CT13432 and FKR47N against African Xoo is largely suppressed by a truncTALE.....	xxix
Figure 3. The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of Xa1.....	xxx
Figure 4. Suppression of Xa1-like resistance unmasks TalI avirulence activity in the rice variety CT13432.....	xxxii
Fig. S1 Western-blot analysis of PXO99A Xoo transformant total protein extracts using an anti-TALE antibody.....	xxxiii
Figure S2. Molecular characterization of a library of BAI3 Δ tal mutant strains.....	xxxiii
Figure S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with BAI3 Δ talI and BAI3 Δ talF mutants.....	xxxiv
Figure S4. The tal2h truncTALE reveals Xa1-like resistance against the Xoo strain BAI3 in several rice varieties.....	xxxv
Figure S5. Western-blot analysis of Xoo total protein extracts using an anti-TALE antibody.....	xxxv

Article 2

Figure 1. Lesion lengths distribution in the F11 population following inoculation with African and Asian strains of Xoo.....	xli
Figure 2. Density curve of the lesion lengths of the F11 population following inoculation with African and Asian Xoo strains.....	xlii
Figure 3. RVD sequences comparison of the TALome of Xoo strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3... ..	xliv
Figure 4. Linkage of an avirulent TALE to the QTL on chromosome 11 conferring resistance to African Xoo strains.....	xlvi
Figure 5. Evaluation of the resistance of IR64 upon inoculation of a set of African Xoo strains displaying diverse talD allelic variants.....	xlvii
Figure 6. Fine mapping of the QTL interval on chromosome 11.....	xlix
Figure S1. Graphic representation of the QTL peaks revealed by the inoculation of MAI1, BAI3 and PXO99A.....	l
Figure S2. Synteny of chromosomes 7 and 11 between Azucena and IR64.....	li
Figure S3. Amino-acid alignment of the four candidate genes in the overlapped region.....	lii

Article 3

Figure 1. Phenotypic characterization of TalD avirulence factor on the IR64 rice variety.....	lxvii
Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries.....	lxviii
Figure 3. Differential gene expression of OsSWEET14 in Nipponbare and IR64 rice varieties.....	lxix

Figure 4. Venn diagram of differential expressed genes in IR64 and Nipponbare, upon the inoculation of MAI1, BAI3 and the BAI3 Δ talD(EV) mutant strains.....lxx

Figure S1. Western blot of total protein extracts of Xoo using an anti-TALE polyclonal antibody.....lxxvi

Figure S2. Induction of the susceptibility (S) gene OsSWEET14 in the RNA samples.....lxxvii

Figure S3. Up- and down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in Nipponbare.....lxxviii

Figure S4. Down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in IR64.....lxxix

Figure S5. Clustal Omega protein alignment of OsSPL6 protein.....lxxx

Table des tableaux

Tableau 1. Modèle de l'interaction "gène-pour-gène", selon Flor (1955).....	vi
Tableau 2. Nombre de gènes SWEET au sein de certaines espèces du règne des Plantae.....	xvii
Tableau 3. Races de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> Africaines sur 12 lignées de riz quasi-isogéniques (NILs) contenant un seul gène de résistance dans le fond génétique IR24.....	xxi
Tableau 4. Gènes de résistance à Xoo (R et E) connus à ce jour.....	xxvi
Tableau 5. Gènes d'avirulence et gènes de résistance au sein du genre <i>Xanthomonas</i> chez différents pathosystèmes.....	lxxxiii

Article 1

Table 1. Four African TALEs mediate resistance when expressed in PXO99A on resistant varieties. .	xxvii
Table S1. Rice accessions screened for resistance to African Xoo strains MAI1, BAI3 and susceptibility to PXO99A.....	xxxvii
Table S2. Prevalence of Xa1-like activity in rice accessions resistant to African Xoo strains MAI1 and BAI3.....	xxxviii
Table S3. List of primers used in this study.....	xxxviii
Table S4. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	xxxix

Article 2

Table 1. Lesion lengths induced by African Xoo on recombinant inbred lines of the F ₁₁ generation and their parents.....	xl
Table 2. List of QTL revealed by the inoculation of African and Asian Xoo strains on the F ₁₁ IR64 x Azucena population.....	xliii
Table 3. Lesion lengths induced by African Xoo on recombinant inbred lines of the F ₃ generation and their parents.....	xlvii
Table S1. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	liii
Table S2. List of genes located in the QTL intervals on chromosomes 7 and 11, in IR64 and their orthologs in Azucena rice variety.....	lxvi

Article 3

Table 1. Common differentially expressed genes induced by BAI3 and MAI1.....	lxxi
Table 2. Genes in the QTL interval of qABB-11 with a binding site predicted for TalD.....	lxxii
Table 3. Differentially expressed genes located in the QTLs in IR64 revealed by MAI1 and BAI3.....	lxxiii
Table 4. List of candidate genes differentially expressed between BAI3 and mock conditions in IR64, located in <i>qABB-11</i>	lxxiv
Table 5. List of candidate genes involved in MAI1 and/or BAI3 resistance in IR64.....	lxxv
Table S1. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	lxxx

Table des matières

Remerciements.....	1
Acknowledgments.....	3
Résumé.....	5
Introduction générale.....	10
I. Généralités sur les interactions plantes - micro-organismes.....	10
1. Les différents types d'interactions.....	10
2. Les systèmes de défense de la plante.....	10
a) Les défenses constitutives.....	10
b) Les défenses induites : un système immunitaire inné à deux niveaux.....	11
i. Les défenses non-spécifiques : Pattern-Triggered Immunity "PTI".....	11
ii. Les défenses spécifiques: Effector-Triggered Immunity "ETI".....	14
3. Transduction du signal éliciteur.....	20
a) L'influx de Ca ²⁺	20
b) La production de ROS.....	21
c) Les MAP kinases.....	21
d) Les hormones végétales.....	22
4. Contournement de la résistance (ETS).....	24
II. Cartographie génétique et localisation de locus à effet quantitatif (QTL).....	25
1. Généralités sur la cartographie génétique.....	25
2. La détection de QTL.....	26
3. Les modèles d'analyses.....	28
III. Le riz.....	29
1. L'importance du riz dans le monde: une céréale majeure dans l'alimentation.....	29
2. Le genre <i>Oryza</i>	30
a) Généralités.....	30
b) Caractéristique des deux espèces cultivées.....	31
3. Les ressources génétiques et génomiques disponibles.....	32
a) Ressources génétiques.....	33
b) Ressources génomiques.....	36
c) Amélioration variétale.....	38
4. Les menaces des cultures de riz.....	40
a) Stress abiotiques.....	40
b) Stress biotiques.....	41
IV. Le genre <i>Xanthomonas</i>	42
1. Généralités.....	42
2. Génomique et <i>Xanthomonas</i>	42

3. Les déterminants du pouvoir pathogène.....	45
a) Les structures de surface des bactéries.....	45
b) Les systèmes de sécrétion.....	46
i. Le système de sécrétion de type 3.....	46
ii. Les autres systèmes de sécrétion.....	47
4. Les effecteurs TAL et non-TAL.....	48
V. L'interaction TALE-hôte.....	49
1. Structure des TALE.....	49
2. Mécanisme de reconnaissance TALE-ADN.....	50
3. La sensibilité à travers les TALE.....	51
a) Les transporteurs membranaires.....	51
b) Les facteurs de transcription.....	52
4. L'immunité et les TALE.....	54
a) La résistance par perte de sensibilité : contournement de l'ETS.....	54
b) Induction des gènes exécuteurs (<i>E</i>).....	54
i. Le premier gène exécuteur identifié.....	55
ii. Les autres gènes exécuteurs connus.....	55
c) <i>Xa1/Xo1</i> et <i>Bs4C</i> : des exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant.....	57
5. Les différents cas de contournement de la résistance par <i>Xoo</i>	58
a) Contournement de la résistance <i>Xa4</i> : expansion de la race 2.....	58
b) Contournement de la résistance <i>Xa7</i> : expansion de la race 9b.....	59
c) Contournement de la résistance <i>Xa1/Xo1</i> : les TALE interférant/tronqués.....	60
6. Les applications des TALE en science.....	61
a) Les outils bioinformatiques développés.....	61
i. Prédiction des cibles de TALE.....	61
ii. Design des TALE.....	61
iii. La suite QueTAL.....	62
b) TALE et édition de génome.....	63
VI. <i>Xanthomonas oryzae</i>	64
1. L'espèce <i>X. oryzae</i>	64
a) Origines et répartitions.....	64
b) Diversité de <i>X. oryzae</i>	66
2. <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> , agent de la bactériose vasculaire du riz.....	67
3. Les souches Africaines de <i>Xoo</i> vs les souches Asiatiques de <i>Xoo</i>	67
a) Les différences générales entre les souches de <i>Xoo</i> Africaines et Asiatiques.....	67
b) Déclenchement de la résistance : des cibles diverses.....	68
Projet de thèse.....	70

Chapitre 1 : Identification d'effecteurs TAL ayant une activité d'avirulence dans les souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	72
Chapitre 2 : Identification de QTL majeurs et mineurs conférant la résistance aux souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> chez le riz (<i>Oryza sativa</i> ssp. <i>indica</i>).....	104
Chapitre 3 : Utilisation d'une approche de RNA-seq pour identifier des gènes exécuteurs candidats contre les souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	123
Discussion générale.....	145
I. Le rôle central des effecteurs de type TAL dans le genre <i>Xanthomonas</i>	145
II. Quelle est la meilleure approche pour identifier des gènes de résistance à <i>Xanthomonas</i> ?.....	146
III. La course aux armements: quelles sont les stratégies évolutives mises en place par la plante et la bactérie pour survivre ?.....	149
a) Evolution des gènes de résistance chez les plantes : les NB-LRR.....	149
b) Evolution des gènes <i>tal</i> chez <i>Xanthomonas</i>	150
IV. Quels sont les mécanismes qui régissent l'évolution des TALomes ?.....	151
V. Que nous reste-t-il à découvrir encore sur les TALE ?.....	152
VI. Quelles sont les stratégies pour maintenir la résistance des cultures ?.....	153
Conclusions & Perspectives.....	155
Annexes.....	157
Références bibliographiques.....	160

Introduction générale

I. Généralités sur les interactions plantes - micro-organismes

1. Les différents types d'interactions

Tout comme les êtres humains, les plantes ne font pas exception à cette règle universelle qui est de partager leur environnement avec une myriade de micro-organismes. Souvent invisibles à l'œil nu, les interactions entre les plantes et les micro-organismes se produisent de différentes manières et à différents niveaux. Il en résulte plusieurs types d'interactions : neutres, mutuellement bénéfiques ou nuisibles, dont les micro-organismes respectifs sont communément appelés commensaux, symbiotes et pathogènes. Lors de ces interactions les plantes servent de niche écologique pour les micro-organismes qui peuvent coloniser les espaces apoplastiques, la surface de la plante ou encore les zones adjacentes à la surface de la plante, comme par exemple la rhizosphère (sol à proximité des racines). En plus d'une niche écologique et d'une source future de nutriments qui seront disponibles à la mort de la plante, de nombreuses plantes libèrent des composés qui attirent et nourrissent les micro-organismes associés. Ces derniers peuvent, dans certains cas, à leur tour sécréter des composés qui favorisent la croissance de la plante et/ou la rendre plus résistante aux stress biotiques et abiotiques (Schirawski and Perlin 2018).

Différents termes sont utilisés pour catégoriser les relations trophiques entre les plantes et les micro-organismes. Cette qualification implique la notion de transfert de ressources, comme les nutriments, d'un partenaire à l'autre. Lorsque les plantes restent vivantes pendant les échanges de nutriments, on parle d'interactions "biotrophes". Au contraire, lorsque le micro-organisme tue les cellules et les tissus végétaux pour se nourrir des restes, ce qui est caractéristique de plusieurs phytopathogènes, on parle d'interactions "nécrotrophes". Dans la pratique, sont reconnus de nombreux états intermédiaires caractérisés par des transitions temporelles et/ou spatiales entre la biotrophie et la nécrotrophie; ces relations sont qualifiées d' "hémibiotrophes" (Vleeshouwers and Oliver 2014). Lorsque les micro-organismes sont simplement capables de se nourrir de restes de plantes mortes sans jouer aucun rôle dans la mort, on parle d'interactions "saprotrophes" (Lewis 1973).

2. Les systèmes de défense de la plante

a) Les défenses constitutives

Au fil de l'évolution, les plantes ont développé diverses stratégies pour faire face aux agents pathogènes. Tout d'abord les micro-organismes phytopathogènes sont confrontés aux défenses constitutives de la plante qui sont d'ordre structural et biochimique. Ces dernières ne nécessitent pas

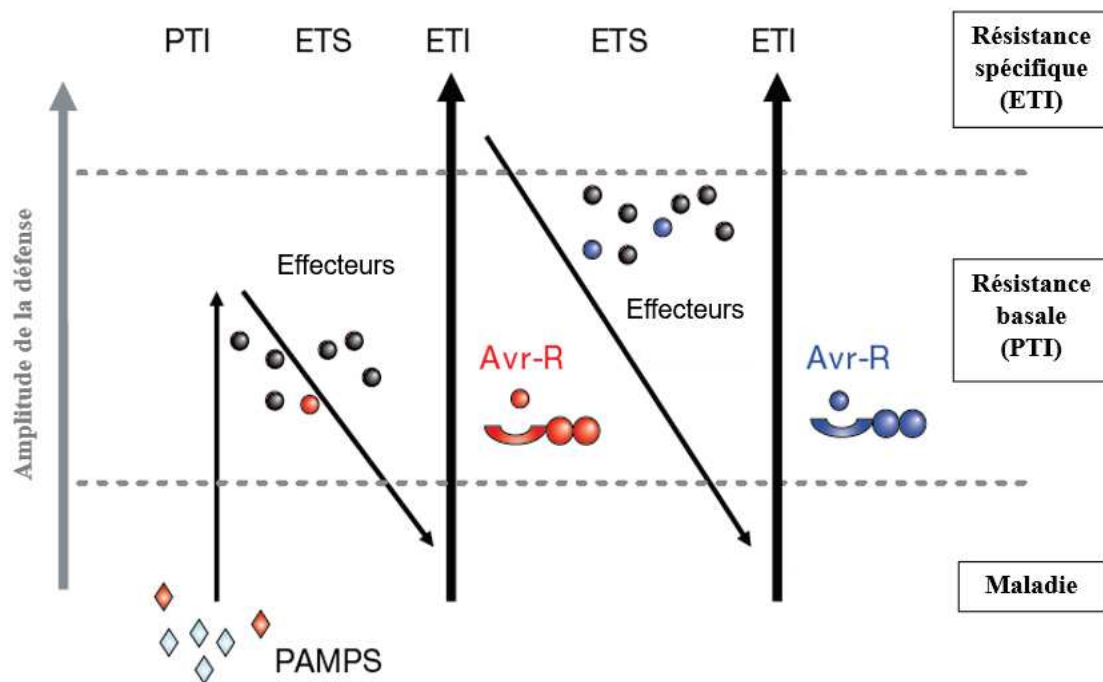


Figure 1. Modèle en Zig-Zag de coévolution des gènes de résistance de plantes et des effecteurs d'agents pathogènes.

En présence d'éliciteurs généraux de type PAMP, la plante met en place la PTI (Immunité médiée par les PAMPs), une réponse de défense non-spécifique et d'une faible amplitude. Si le pathogène injecte des effecteurs pour contourner cette voie de défense, la plante devient sensible, c'est l'ETS (Sensibilité induite par les effecteurs). Lorsque la plante possède un gène de résistance (*R*) codant pour une protéine capable de reconnaître spécifiquement un de ces effecteurs, une résistance d'une amplitude importante est mise en place par la plante : c'est l'ETI. L'effecteur reconnu est alors appelé protéine d'avirulence (*Avr*). Au fil du temps le pathogène évolue, et acquiert de nouveaux effecteurs, ce qui lui permet de déjouer les défenses spécifiques de la plante ; ce jusqu'à ce que de nouvelles protéines de résistance (*R*) apparaissent. Schéma adapté de Jones et Dangl (2006).

la détection du pathogène pour être mises en place. L'épiderme des plantes, qui est la première surface rencontrée par les micro-organismes, est généralement constituée d'une assise de cellules vivantes dont la paroi externe est principalement composée de cutine et de cires qui forment la cuticule, permettant de rendre l'épiderme plus ou moins imperméable. La paroi cellulaire végétale qui se compose de microfibrilles de cellulose, de pectine, d'hémicelluloses, de protéines et, dans certains cas, de lignine, est un autre composant de l'épiderme, qui avec la cuticule forment une première ligne de défense contre les attaques des pathogènes en limitant leur entrée dans les tissus végétaux. D'autre part, les plantes produisent aussi des métabolites secondaires aux propriétés antimicrobiennes parmi lesquelles on trouve les phytoanticipines. Ces composés sont produits dans le cadre de la croissance et du développement des plantes de façon constitutive et sont généralement stockés dans des organes ou des tissus spécialisés (e.g. les trichomes, les glandes oléifères ou les couches cellulaires épidermiques) (Lee et al. 2017).

b) Les défenses induites : un système immunitaire inné à deux niveaux

A la différence des défenses constitutives, la perception de l'agent pathogène par la plante est nécessaire à la mise en place des défenses induites. Deux situations sont possibles lors de la détection du pathogène. Premièrement, si l'agent pathogène est capable de se multiplier et d'entraîner le développement de la maladie, il est qualifié de virulent et la plante de sensible; ici on parle d'interaction compatible. Dans le cas contraire, lorsque la plante arrive à prévenir la colonisation par l'agent pathogène l'interaction est dite incompatible, et la plante est alors résistante. Deux types de réactions de défenses induites sont décrites à ce jour : i) les réponses de défense non-spécifiques (PTI pour "PAMP-Triggered Immunity", ou Immunité médiée par les PAMP), aussi appelée "réponses générales de défense", et ii) les réponses de défense spécifiques (ETI pour "Effector-Triggered Immunity", ou Immunité médiée par les Effecteurs). Le modèle dit "en Zig-Zag" illustre bien la dynamique évolutive sous-jacente à ces deux niveaux de résistance de la plante et aux éliciteurs microbiens (Figure 1, (Jones and Dangl 2006)).

i. Les défenses non-spécifiques : Pattern-Triggered Immunity "PTI"

Dans le cas de la résistance non-spécifique (PTI), la plante reconnaît des motifs moléculaires conservés, dérivés de l'agent pathogène appelés PAMP ("Pathogen-Associated Molecular Patterns"), tel que la flagelline (issue du flagelle bactérien), la chitine (présentes chez des champignons, insectes...) ou encore les lipopolysaccharides (LPS, composants de la membrane externe des bactéries à gram négatif) (Jones and Dangl 2006; Dodds and Rathjen 2010). Comme les PAMP sont souvent dérivés de microbes non-pathogènes, ils sont préférentiellement appelés motifs moléculaires associés aux microbes (MAMP ou "Microbe-Associated Molecular Patterns").

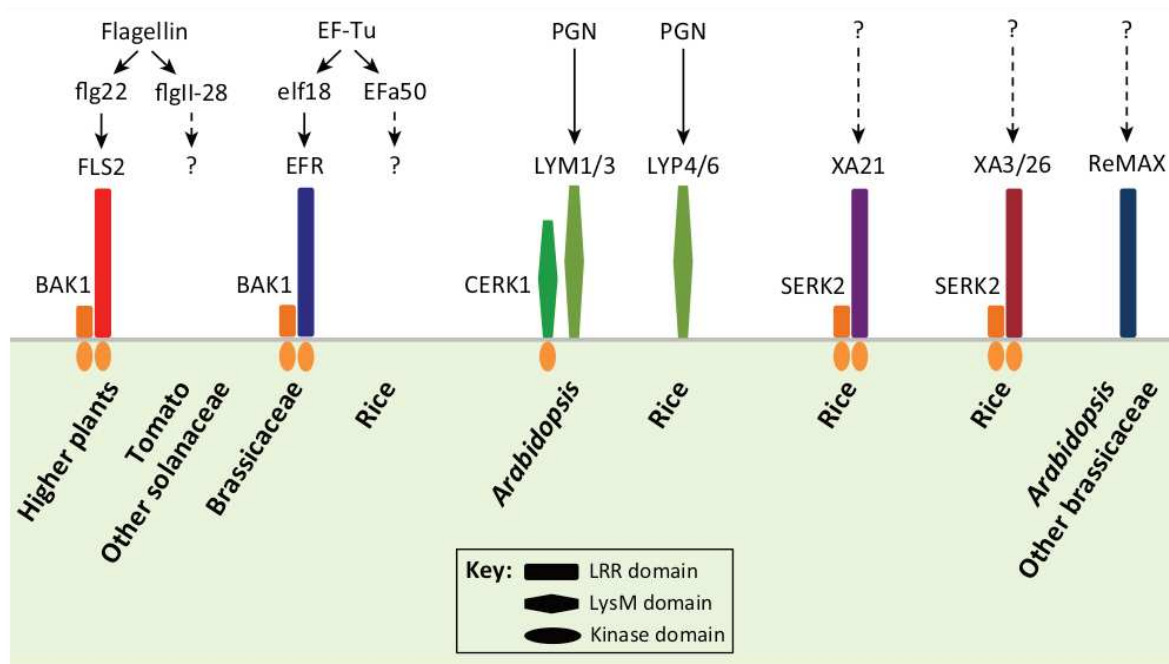


Figure 2. Reconnaissance des bactéries par les PRRs (Plant Pattern-Recognition Receptors).

Le récepteur kinase à domaine riche en leucine (RK-LRR, “Leucine-Rich Repeat Receptor Kinase”) FLS2 reconnaît la flagelline via l'épitope flg22. L'épitope flgII-28 est reconnu par la tomate et d'autres Solanacées via un PRR encore inconnu. Le RK-LRR EFR perçoit le facteur d'élongation Tu (EF-Tu) chez les Brassicacées au niveau de l'épitope elf18, un autre épitope reconnu chez le riz par un PRR non identifié. FLS2 et EFR interagissent avec le corécepteur RK (“Receptor Kinase”) BAK1 immédiatement après la reconnaissance de flg22 et elf18 respectivement. Les peptidoglycans (PGNs) sont reconnus chez *Arabidopsis* par les RLPs-LysM (“lysine motif receptor-like proteins”) LYM1 et LYM3, qui peuvent former un complexe avec la protéine RK-LysM CERK1. Chez le riz les récepteurs LysM impliqués sont LYP4 et LYP6. Toujours chez le riz, les RK-LRRs XA21 et XA3/26 interagissent avec la protéine RK-LRR OsSERK2 et confèrent la résistance à *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Le PAMP (“Pathogen-Associated Molecular Patterns”) reconnu par XA21 a été identifié récemment, il s'agit de la protéine RaxX (Pruitt et al., 2015). Le PAMP de *Xanthomonas* reconnu par le récepteur ReMAX chez *Arabidopsis* n'est pas identifié. Les flèches noires indiquent une liaison directe alors que les flèches en pointillé indiquent que la liaison directe n'a pas encore été démontrée ou que le PRR ou le PAMP n'a pas encore été identifié (Zipfel, 2014).

		Génotype de la plante	
		<i>R</i>	<i>r</i>
Génotype du pathogène	<i>Avr</i>	Interaction incompatible	Interaction compatible
	<i>avr</i>	Interaction compatible	Interaction compatible

Tableau 1. Modèle de l'interaction "gène-pour-gène", selon Flor (1955).

Lorsque le gène de résistance (*R*) de la plante est en présence du gène d'avirulence (*Avr*) correspondant chez le pathogène l'interaction est incompatible : la plante est résistante. Dans le cas des autres combinaisons l'interaction est compatible et la maladie se développe.

La plante reconnaît ainsi les MAMP à l'aide de récepteurs membranaires appelés PRR ("Pattern Recognition Receptors"). Ces récepteurs sont i) soit de type RK ("Receptor Kinase" ou Récepteur Kinase), comprenant en plus d'un domaine transmembranaire, un domaine kinase intracellulaire et un domaine récepteur extracellulaire de type LysM ("Lysine Motif") ou LRR ("Leucine Rich Repeat" ou domaine riche en leucine), ii) soit de type RLP ("Receptor Like Proteins") se composant des mêmes domaines que les RK à l'exception du domaine kinase cytoplasmique qui est absent (Figure 2, (Zipfel 2014).

Ces récepteurs sont également capables de détecter des motifs moléculaires associés à des dommages causés par les micro-organismes, les DAMP ("Damage-Associated Molecular Patterns"). Ces éliciteurs endogènes sont produits suite à l'action des enzymes du pathogène au cours du processus d'infection menant à la dégradation de la paroi cellulaire végétale ou de la cuticule (Hamann 2012; Yeats and Rose 2013; Serrano et al. 2014). La reconnaissance des DAMP déclenche également des réponses immunitaires non-spécifiques (PTI) (Bigeard et al. 2015).

- Perception des bactéries

La première paire PAMP/PRR identifiée chez une plante fut le récepteur RK-LRR FLS2 (Flagellin-Sensitive 2) d'*Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) qui reconnaît un peptide à la surface du flagelle bactérien de *Pseudomonas aeruginosa* nommé flg22 (Gómez-Gómez and Boller 2000; Bauer et al. 2001). Ce dernier est un épitope de 22 acides aminés (aa) conservés en N-terminal de la flagelline. La liaison de flg22 à FLS2 provoque l'hétérodimérisation de ce dernier avec BAK1 ("BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1-associated kinase 1") et leur activation réciproque est suivie par l'induction du système immunitaire (Figure 2, (Sun et al. 2013). La flagelline est reconnue par de nombreuses plantes et des orthologues fonctionnels de FLS2 ont été identifiés chez le tabac, le riz, la tomate et la vigne (Hann and Rathjen 2007; Robatzek et al. 2007; Takai et al. 2008; Trdá et al. 2014). La perception du facteur d'élongation bactérien EF-Tu par le récepteur RK-LRR EFR d'*A. thaliana* est une autre paire PAMP/PRR bien étudiée (Figure 2). Le récepteur EFR reconnaît directement l'épitope N-acétylé conservé elf18, provenant d'*Escherichia coli*, qui correspond aux 18 premiers acides aminés de EF-Tu (Kunze et al. 2004; Zipfel et al. 2006).

D'autres molécules appelées peptidoglycanes (PGN), qui constituent un des composés majeurs des parois cellulaires bactériennes, sont perçues par les plantes comme des PAMP. Différentes études suggèrent que la perception des PGN chez les plantes utilise un système de récepteurs multimériques comprenant des RLP-LysM se liant aux PGN et des RK-LysM transmettant le signal (Zipfel and Oldroyd 2017). Chez *Arabidopsis*, cette perception implique deux récepteurs RLP-LysM, AtLYM1 et AtLYM3, qui se lient spécifiquement aux PGN et également le récepteur RK-LysM CERK1, qui ne se lie pas aux PGN eux-mêmes (Willmann et al. 2011). Chez le riz la

perception des PGN implique les orthologues RLP-LysM OsLYP4 et OsLYP6 (Liu et al. 2012a) (Figure 2).

Par ailleurs, plusieurs potentiels PRR végétaux reconnaissant les bactéries ont été identifiés, mais leurs agonistes spécifiques restent inconnus. Il s'agit notamment du récepteur RK-LRR du riz XA3/XA26 qui assure la résistance à la bactérie *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Sun et al. 2004), et du récepteur RLP-LRR ReMAX/RLP1 d'*Arabidopsis*, qui confère la reconnaissance de l'énigmatique MAMP bactérien eMax partiellement purifié de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Jehle et al. 2013) (Figure 2). Depuis ces dernières années plusieurs gènes agissant en aval de la signalisation de défense médiée par Xa3/Xa26 ont été rapportés. Par exemple, *OsDR8* ("Oryza sativa defense-responsive gene8"), codant pour une enzyme responsable de la synthèse de la thiamine, joue un rôle positif dans la voie de défense initiée par Xa3/Xa26 (Wang et al. 2006). Les facteurs de transcription WRKY13 et WRKY45-2 sont aussi positivement impliqués dans la résistance médiée par Xa3/Xa26 en réprimant ou en activant l'expression d'autres gènes (Qiu et al. 2007; Tao et al. 2009; Xiao et al. 2013; Cheng et al. 2015). C3H12, codant pour une protéine se liant aux acides nucléiques, ainsi que *OsSERK2* ("Oryza sativa somatic embryogenesis receptor kinase2"), codant pour une kinase de type XA3/XA26, sont également nécessaires à la résistance médiée par Xa3/Xa26 (Deng et al. 2012b; Chen et al. 2014). Le gène *OsDR10*, quant à lui, influence négativement la résistance médiée par Xa3/Xa26 (Xiao et al. 2009).

- Perception des champignons et des virus

La chitine, constituant majeur de la paroi cellulaire des champignons, est reconnue par le récepteur RK-LysM CEBiP, initialement identifié chez le riz. Cette interaction induit l'homodimérisation du récepteur RK-LysM, et la formation d'un hétéro-complexe avec OsCERK1 (l'orthologue chez le riz de AtCERK1) (Shimizu et al. 2010; Hayafune et al. 2014). Chez le riz, les récepteurs RLP-LysM OsLYP4 et OsLYP6 sont autant impliqués dans la perception des PGN que de la chitine (Liu et al. 2012a).

Bien que les concepts d'immunité antivirale aient été initialement exclus du modèle en zigzag, des études récentes ont soulevé un thème commun dans les interactions plantes-virus. Les plantes peuvent également utiliser la PTI classique pour lutter contre les infections virales, de la même manière que pour les agents pathogènes non viraux (Kørner et al. 2013; Iriti and Varoni 2014; Niehl et al. 2016; Nicaise and Candresse 2017). L'immunité antivirale des plantes a été conceptuellement considérée comme du "silencing RNA", dans laquelle les ARN doubles brins viraux sont considérés comme des PAMP qui activent les protéines Dicers en tant que PRR; l'action des protéines Dicers

pouvant être supprimée par les effecteurs viraux (Moon and Park 2016; Calil and Fontes 2017). Plus récemment, de multiples études ont mis en évidence que l'arsenal de défense des plantes contre les virus impliquait des PRR transmembranaires comme dans la PTI classique (Yang et al. 2010; Liu et al. 2011a; Kørner et al. 2013; Zvereva et al. 2016; Nicaise and Candresse 2017; Kong et al. 2018).

- Perception des DAMP

En 2006, le peptide AtPep1 fut identifié comme un des DAMP déclenchant une réaction immunitaire chez *A. thaliana*. AtPep1 est un peptide de 23 aa qui dérive d'une molécule précurseur de 92 aa, nommée PROPEP1, appartenant à une famille multigénique qui code pour les propeptides PROPEP. L'expression de PROPEP1 est induite suite à une blessure, en réaction au méthyle jasmonate et à l'éthylène (Huffaker et al. 2006). AtPep1 est reconnu par deux récepteurs RK-LRR nommés PEPR1 et PEPR2 (Yamaguchi et al. 2006, 2010; Krol et al. 2010), ce qui entraîne l'activation de la transcription du gène de défense PDF1.2 appelé "defensin" et la synthèse d'H₂O₂, qui sont tous deux des composants de la réponse immunitaire innée (Huffaker et al. 2006).

Outre AtPep1, d'autres DAMP appartenant aux catégories des glucides, des lipides et des nucléotides peuvent être perçus par la plante comme molécule signal permettant d'induire le système immunitaire (Boutrot and Zipfel 2017).

- Dépôt de callose

La callose est un polymère de β -(1,3)-glucane amorphe et de poids moléculaire élevé. Outre son rôle dans la croissance et le développement normaux de la plante, il joue un rôle important dans la défense des plantes. Suite à la reconnaissance de PAMP, ou DAMP (Brown, Ian et al. 1998; Gómez-Gómez et al. 1999), une accumulation de callose est induite au site d'infection, au niveau des parois cellulaires. Appelées papilles, ces appositions de callose forment une barrière qui sert de matrice dans laquelle les composés antimicrobiens peuvent être déposés, ce qui permet de concentrer les défenses chimiques sur les sites cellulaires d'attaque. La chitine et le chitosan sont des exemples de PAMP puissants, provenant de parois cellulaires fongiques, induisant le dépôt de callose (Iriti and Faoro 2009).

ii. Les défenses spécifiques: Effector-Triggered Immunity "ETI"

- Définitions générales des acteurs de l'ETI

Le second niveau de résistance appelé ETI ("Effector-Triggered Immunity") décrit la reconnaissance par la plante de certaines protéines synthétisées par l'agent pathogène, appelées

effecteurs, qui sont délivrées dans la matrice extracellulaire ou dans la cellule végétale pour améliorer l'aptitude de l'agent pathogène en lui permettant d'outrepasser la PTI. Les plantes qui ne sont pas capables de détecter ces effecteurs sont sensibles à l'agent pathogène, ce qui donne lieu à une sensibilité déclenchée par les effecteurs (ETS, voir paragraphe 5). Au contraire, lorsque que les plantes peuvent reconnaître les effecteurs par le biais des protéines de résistance (protéines R) l'ETI se met en place (Bigéard et al. 2015). Ce mécanisme de reconnaissance repose sur le modèle d'interaction "**gène pour gène**" décrit par H.H. Flor (1955) de telle sorte que la résistance a lieu uniquement lorsque des plantes, contenant un gène de résistance *R* spécifique, sont infectées par une souche de l'agent pathogène portant le gène d'avirulence *Avr* correspondant (Tableau 1, (Flor 1971). En comparaison à la PTI, l'ETI est une réponse de défense amplifiée et accélérée qui se manifeste habituellement par une cascade de signalisation aboutissant à un "burst" oxydatif et qui se traduit par la mise en place de la réponse hypersensible ("Hypersensitive Response", ou HR) (Greenberg and Yao 2004; Jones and Dangl 2006). La HR permet le confinement du pathogène au site d'infection et ainsi d'éviter sa propagation (Dangl and Jones 2001; Jones and Dangl 2006).

- Les protéines R

Plusieurs classes de protéines R sont connus à ce jour chez les plantes, en outre, la catégorie des LRR extracellulaires (eLRR) qui comprend les protéines Cf de la tomate permettant la résistance au champignon pathogène *Cladosporium fulvum* qui provoque la maladie de la moisissure des feuilles de la tomate (*Solanum lycopersicum*) (Joosten and De Wit 1999; Rivas and Thomas 2005; Stergiopoulos and De Wit 2009). Les protéines de résistance Cf9, Cf4, Cf5 et Cf2 sont des protéines RLP qui perçoivent respectivement les effecteurs Avr9, Avr4, Avr5 et Avr2 (Thomas et al. 1998; Rivas and Thomas 2005). Il a longtemps été suggéré que les RLP, qui contrairement aux RLK ne possèdent pas de domaine de signalisation intracellulaire, nécessiteraient d'une interaction avec une protéine kinase pour initier la signalisation (Jones et al. 1994; Joosten and De Wit 1999; Liebrand et al. 2014). En 2015, Postma et ses collaborateurs ont démontré que le récepteur extracellulaire Cf4, en association avec la protéine RLK-LRR *SISOBIR1* ("SUPPRESSOR OF BIR1-1"), perçoit Avr4 au niveau de la membrane plasmique des cellules hôtes, induisant par la suite l'endocytose des deux récepteurs dépendamment de BAK1/SERK3 ("BRI1-ASSOCIATED KINASE 1" / "SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASE 3"). (Postma et al. 2016). De la même façon que Cf4, Cf9 nécessite la reconnaissance, directe ou indirecte, de Avr9 pour induire son internalisation via BAK1/SERK3. De plus, les deux RLP, Cf4 et Cf9, formeraient chacun un hétérodimère avec la protéine SERK1 lors de la perception de leur effecteur d'avirulence respectif (Postma et al. 2016).

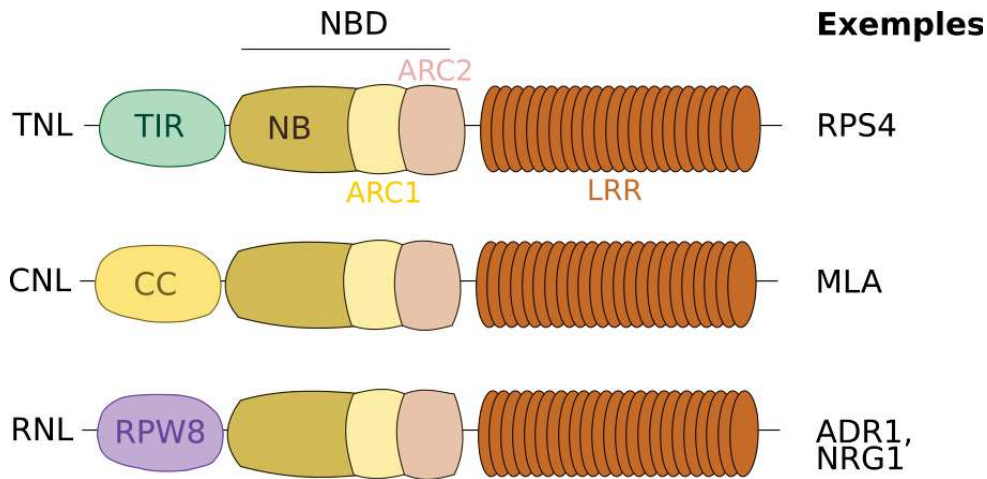
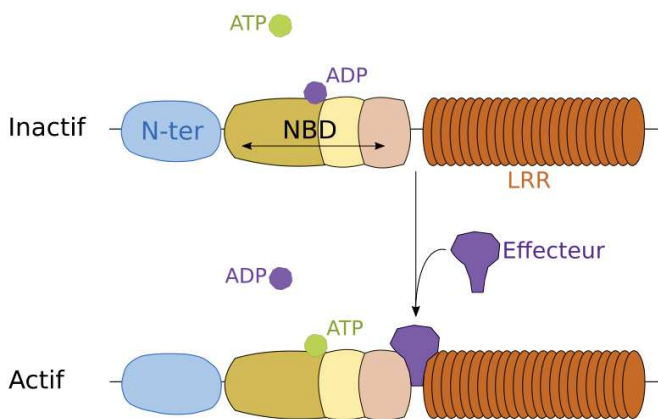


Figure 3 . Structures des récepteurs NB-LRRs chez les plantes.

Architectures des domaines de NB-LRRs de plantes classées en trois groupes contenant un domaine TIR, CC ou CC similaire à RPW8 fusionné aux domaines NBD et LRR. Le NBD peut être encore divisé en sous-domaines NB, ARC1 et ARC2. CC, coiled-coil; LRR, leucine-rich repeat; NBD, nucleotide-binding domain; RPW8, resistance to powdery mildew 8; TIR, Toll/interleukin-1 receptor/R protein. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

Echange ATP/ADP



Commutation d'équilibre

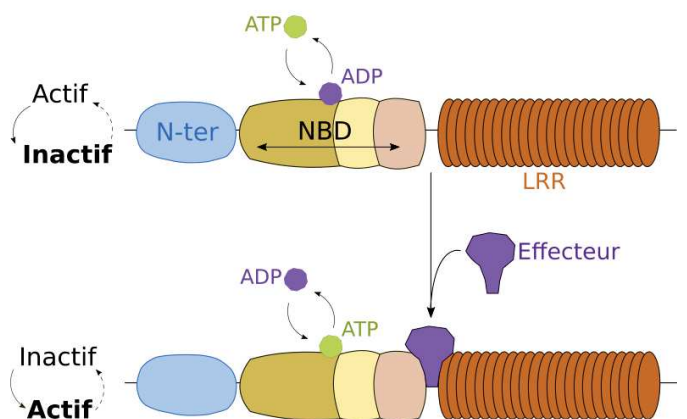


Figure 4. Deux modèles de liaison ATP/ADP des NB-LRRs chez les plantes.

Dans le modèle d'échange ATP/ADP, les NB-LRRs à l'état de repos sont liés à l'ADP. Lors de la détection d'un pathogène, l'ADP est libéré et l'ATP entre dans la poche de liaison pour induire et stabiliser les changements de conformation. Dans le modèle de commutation d'équilibre, les NB-LRR passent d'un état inactif lié à l'ADP à un état actif lié à l'ATP. La perception de l'effecteur pousse l'équilibre vers l'état lié à l'ATP, conduisant à l'activation des complexes NB-LRR. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

Par ailleurs, il existe une classe de gènes de résistance chez les plantes qui a évolué afin de piéger les effecteurs des agents pathogènes au niveau du promoteur des gènes de l'hôte; on les nomme gènes exécuteurs (**Cette catégorie de gènes sera détaillée plus bas, voir section V. 4. c**). Cependant, une grande partie des protéines clés de l'ETI appartiennent à une famille de récepteurs intracellulaires polymorphes nommés NB-LRR ("Nucleotide-Binding Leucine-Rich-Repeat") (Jones and Dangl 2006; Jacob et al. 2013).

- Les NB-LRR

S'élevant à plusieurs centaines dans chaque génome de plante, les gènes *NB-LRR* évoluent rapidement. Leur expansion et diversification sont sans doute dû aux forces évolutives imposées par la présence de pathogènes, évoluant eux-même très vite, afin d'obtenir de nouvelles capacités de reconnaissance (Adachi et al. 2019).

L'architecture des récepteurs NB-LRR se compose de trois domaines principaux (Figure 3) :

i) un **domaine N-terminal** qui permet de classer en trois différentes catégories les NB-LRR contenant soit des domaines "Toll-interleukine-1 receptor" (TIR), "Coiled-Coil" (CC), ou bien encore "resistance to powdery mildew 8" (RPW8) (pour revue dans (Duxbury et al. 2021). Les TIR-NB-LRR (ou TNL) sont présents uniquement chez les dicotylédones, tandis que les CC-NB-LRR (ou CNL) sont conservés à la fois chez les dicotylédones et les monocotylédones (Yue et al. 2012; Jacob et al. 2013).

ii) un **domaine central NBD** ("nucleotide binding domain") qui peut être divisé en trois sous-domaines conservés : les sous-domaines NB, ARC1 et ARC2 (Biezen and Jones 1998; Takken et al. 2006),

iii) un **domaine LRR** ("leucine-rich repeat") qui permet l'interaction protéine-protéine et à la fois la perception des ligands et la régulation de l'activité des NB-LRR (Takken and Goverse 2012).

Le domaine NBD des NB-LRR fait partie de la superfamille des ATPases et permet un changement de conformation de la protéine via l'échange d'une molécule d'ADP en ATP, ceci suite à la perception de l'effecteur. De nombreuses études démontrent que les NB-LRR liés à l'ADP sont dans un état inactif, et que les NB-LRR liés à l'ATP sont dans un état actif (Figure 4, (Tameling et al. 2006; Williams et al. 2011; Slootweg et al. 2013; Wang et al. 2019a, b). Dans un modèle général d'activation des NB-LRR végétaux, les domaines TIR ou CC N-terminaux et LRR C-terminaux coopèrent pour inhiber stériquement le domaine NBD de l'échange ATP/ADP (Takken and Goverse

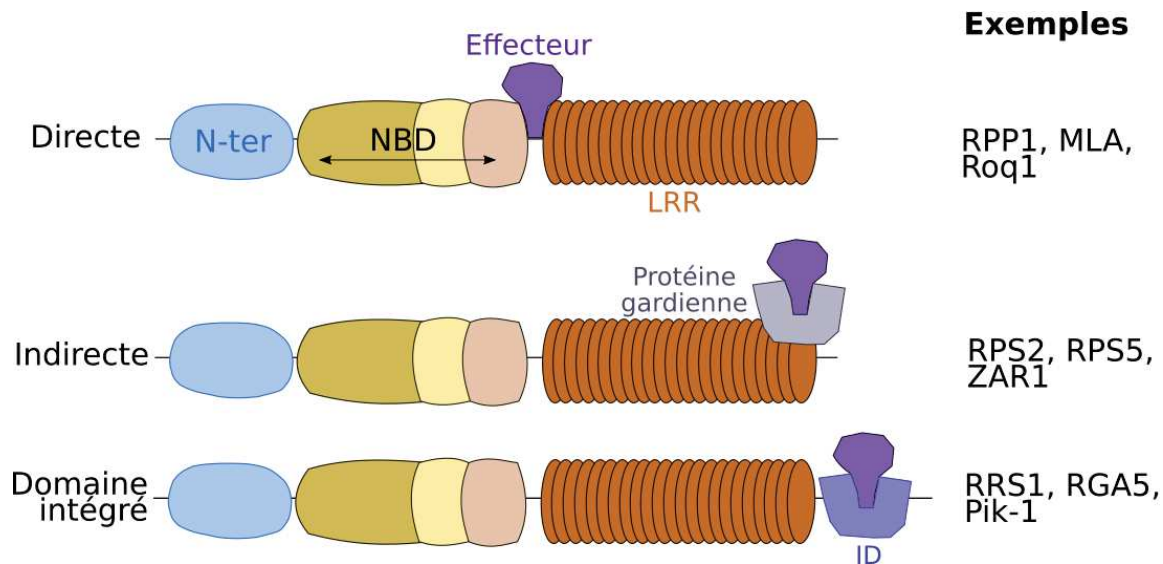


Figure 5. Trois modèles de reconnaissance des effecteurs par les NB-LRRs des plantes.

Certains NB-LRRs de plantes se lient directement aux protéines effectrices correspondantes ou détectent indirectement l'effecteur pathogène par l'intermédiaire des protéines gardées ou decoy. Certains NB-LRRs de plantes ont une identité non canonique pour médier la reconnaissance de l'effecteur. ID, integrated domain; LRR, leucine-rich repeat; N, N-terminal domain (CC, TIR ou RPW8); NBD, nucleotide-binding domain. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

2012; Griebel et al. 2014). Le domaine LRR fonctionne souvent comme une unité auto-inhibitrice qui régule l'activité des NB-LRR végétaux et animaux. Par exemple, les NB-LRR végétaux RPS5 ("Resistance to *Pseudomonas Syringae*5") et RPP1A ("Recognition to *Peronospora Parasitica*1A") deviennent tous deux constitutivement actifs lorsque leurs domaines LRR sont supprimés (Weaver et al. 2006; Qi et al. 2012). En outre, le domaine LRR peut également participer à la liaison directe des ligands au cours de la perception des pathogènes ; par exemple, le domaine LRR de RPP1 est nécessaire et suffisant pour immunoprécipiter son effecteur de reconnaissance ATR1 (Krasileva et al. 2010).

- Les différents modèles d'interactions protéine R/ protéine Avr

On distingue différents modèles décrivant au niveau moléculaire l'interaction protéine Avr - protéine R : i) le modèle ligand-récepteur où l'interaction entre la protéine R et la protéine Avr est directe, ii) les modèles où l'interaction est indirecte, tel que le modèle de garde, ou celui dit de leurre (ou "decoy"), et iii) le modèle de reconnaissance par le biais d'un domaine intégré (ID) où l'interaction avec l'effecteur s'effectue via la reconnaissance par un domaine fusionné au C-terminal du NB-LRR (Figure 5).

Reconnaissance directe:

Le mécanisme le plus simple et le plus intuitif par lequel les NB-LRR perçoivent les effecteurs est l'interaction directe. Par exemple, la série de NB-LRR alléliques Pik chez le riz confère une perception à de multiples effecteurs AVR-Pik dans *Magnaporthe oryzae* par liaison directe. Pikm peut reconnaître trois effecteurs AVR-Pik, tandis que Pikp ne peut en reconnaître qu'un seul. En étudiant les interactions entre Pik et les protéines AVR-Pik, les chercheurs ont pu utiliser l'ingénierie guidée par la structure pour créer un nouvel allèle de Pik qui se lie à un AVR-Pik non reconnu auparavant (De La Concepcion et al. 2019). D'autres exemples de NB-LRR de plantes détectant la présence d'effecteurs par interaction directe incluent le TNL RPP1 d'*Arabidopsis* se liant à l'effecteur ATR1 de *Hyaloperonospora arabidopsidis*, et le CNL Pi-ta du riz qui reconnaît par interaction directe l'effecteur fongique AVR-Pita de *M. oryzae* (Jia et al. 2000; Krasileva et al. 2010). Deux observations plus sophistiquées de reconnaissance directe ont été rapportées pour les complexes Roq1-XopQ et RPP1-ATR1, des TIR-NB-LRR et des effecteurs correspondant aux pathosystèmes *Nicotiana tabacum-Xanthomonas euvesicatoria* et *A. thaliana-Hyaloperonospora arabidopsidis* respectivement, dans lesquels plusieurs chaînes latérales exposées à la surface du domaine LRR et un connecteur allongé entre deux LRRs lient directement les effecteurs (Ma et al. 2020; Martin et al. 2020).

Reconnaissance indirecte:

i) Le modèle de garde : De nombreux NB-LRR de plantes n'interagissent pas directement avec les effecteurs auxquels ils confèrent une reconnaissance. L'hypothèse de garde décrit un modèle de reconnaissance des effecteurs via des interactions ligand-récepteur indirectes (Dangl and Jones 2001). Les NB-LRR de garde surveillent l'intégrité des cibles moléculaires des effecteurs et activent une réponse immunitaire lors de la reconnaissance récepteur-ligand. Chez *Arabidopsis*, la protéine RIN4 ("RPM1-interacting 4") est une protéine réceptrice qui interagit directement avec les NB-LRR de garde RPS2 ("Resistance to *P. syringae* 2") et RPM1 ("Resistance to *P. syringae* pv. *maculicola* 1"). De multiples effecteurs ciblent RIN4, notamment la protéase sécrétée AvrRpt2 de *P. syringae*, qui clive RIN4, conduisant à l'activation de la protéine R RPS2 qui déclenche le signal immunitaire (Axtell and Staskawicz 2003; Mackey et al. 2003). De plus, l'effecteur AvrRpm1 de *P. syringae* induit l'adénosine diphosphate (ADP)-ribosylation de RIN4, qui à son tour conduit à la phosphorylation de RIN4 par les kinases de l'hôte. Le changement de conformation de RIN4 conduit alors à l'activation de la protéine R RPM1, déclenchant ainsi une réaction immunitaire (Chung et al. 2011; Liu et al. 2011b; Redditt et al. 2019). Un autre exemple bien étudié d'un NB-LRR de garde est RPS5, qui surveille la protéine kinase PBS1 ("Arabidopsis AvrPphB Susceptible1"). Le clivage de PBS1 par la protéase effectrice AvrPphB active l'immunité médiée par RPS5 (Shao et al. 2003; Ade et al. 2007).

ii) Le modèle "decoy" : L'hypothèse du modèle de leurre ("decoy"), dérivée du modèle de garde, décrit un scénario selon lequel des protéines gardées par des NB-LRR sont ciblées par des effecteurs, mais ne jouent aucun rôle physiologique discernable dans l'immunité, si ce n'est celui de leurre dans la reconnaissance des effecteurs (Van Der Hoorn and Kamoun 2008). Un exemple de leurre classique est la pseudokinase ZED1 ("HopZ1 ETI deficient 1") qui est nécessaire à l'activation du CNL ZAR1 ("HopZ-activated resistance 1"). ZAR1 confère une reconnaissance indirecte à de multiples effecteurs, dont l'effecteur AvrAC de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* et l'effecteur HopZ1a de *P. syringae* (Lewis et al. 2013; Wang et al. 2015b; Seto et al. 2017; Schultink et al. 2019; Laflamme et al. 2020). AvrAC et HopZ1a respectivement, uridylyle et acétyle des récepteurs de type kinases cytoplasmiques ("Receptor-Like Cytoplasmic Kinase" ou RLCK) pour conférer la virulence (Feng et al. 2012; Lewis et al. 2013). AvrAC uridylyle la protéine RLCK PBL2, résultant en PBL2^{UMP}, qui interagit ensuite avec la protéine RLCK RKS1 ("pseudokinase resistance-related kinase 1") qui fait partie d'un complexe préformé avec ZAR1 (Wang et al. 2015b). L'hétérotrimère ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} s'assemble ensuite en une structure pentamérique en forme de roue appelée résistosome, composée de cinq protomères ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} (Wang et al. 2019a, b). HopZ1a, quant à lui, acétyle la pseudokinase ZED1, faisant partie

d'un autre complexe préformé avec ZAR1, pour déclencher l'assemblage d'un complexe d'ordre supérieur dans la plante, présumé être équivalent au résistosome ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} (Lewis et al. 2013; Hu et al. 2020). D'autres RLCK sont ciblées par HopZ1a et reconnues par le complexe ZAR1-ZED1, où ZED1 exerce une fonction d'adaptateur qui rappelle celle de RKS1 (Bastedo et al. 2019). L'uridylation de PBL2 n'augmente pas la virulence médiée par AvrAC, et ZED1 n'a pas d'activité kinase ; par conséquent, ces protéines hôtes sont considérées comme des leurres et non comme des récepteurs (Lewis et al. 2013; Wang et al. 2015b).

Reconnaissance par le biais d'un domaine intégré :

Certains NB-LRR contiennent des domaines non canonique, appelés domaines intégrés (ID), qui permettent la reconnaissance des effecteurs pathogènes correspondants. La perception des effecteurs se fait pour certains ID par interaction directe, pouvant entraîner dans certains cas une modification enzymatique du domaine intégré. Dans ces cas, la relation entre un ID et un NB-LRR rappelle celle d'un récepteur gardé par un NB-LRR correspondant. En effet, le lien génétique résultant de la fusion d'un ID avec un NB-LRR confère des avantages, c'est-à-dire que le brassage d'allèles qui entraînerait une perte de compatibilité entre une protéine gardée et son NB-LRR est beaucoup moins susceptible de se produire dans la configuration NB-LRR/ID. L'un des exemples de NB-LRR/ID les mieux étudiés est celui de la protéine RRS1 ("Resistance to *Ralstonia solanacearum* 1"), qui contient un domaine WRKY en C-terminal comme ID (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). Les domaines WRKY lient l'ADN, et de nombreux facteurs de transcription contenant des domaines WRKY ont été identifiés pour réguler les réponses immunitaires (Pandey and Somssich 2009). L'effecteur PopP2 de *R. solanacearum* est une acétyltransférase qui se lie et acétyle les facteurs de transcription WRKY, perturbant la liaison à l'ADN et favorisant la virulence (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). Cependant, au cours de l'infection de plantes exprimant RRS1, le domaine WRKY de RRS1 est acétylé par PopP2, et pour les allèles de résistance de RRS1 (RRS1-R), l'acétylation du domaine WRKY est suffisante pour activer une réponse immunitaire, en coopération avec sa paire NB-LRR RPS4 ("Resistance to *P. syringae* 4") (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). RRS1 confère la reconnaissance à d'autres effecteurs, y compris l'effecteur AvrRps4 de *P. syringae*, qui se lie également au domaine WRKY de RRS1 (Sarris et al. 2015). D'autres NB-LRR/ID végétaux bien étudiés comprennent les NB-LRR RGA5 et Pik-1 du riz, qui contiennent des domaines intégrés associés aux métaux lourds (HMA) (Césari et al. 2014).

De récentes études ont montré que certains NB-LRR ont évolué pour fonctionner ensemble, formant à divers degrés des complexes génétiques ou biochimiques. Les NB-LRR peuvent donc fonctionner sous forme de paires, de réseaux fonctionnels, en plus de fonctionner sous la forme d'un singleton. Deux des exemples les plus étudiés de paires NB-LRR sont RPS4/RRS1 d'*Arabidopsis* et

RGA4/RGA5 (également connu sous le nom de Pia-1 et Pia-2) du riz. Dans le cas de RPS4/RRS1, RPS4 est surexprimé et constitutivement auto-actif; cette activation peut être supprimée quand RPS4 est co-exprimé avec RRS1. La perception des effecteurs AvrRps4 et PopP2 par le domaine WRKY de RRS1 initie une réponse immunitaire qui nécessite une interaction directe entre RRS1 et RPS4 (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015; Ma et al. 2018). Par conséquent, RRS1 fonctionne comme un NB-LRR capteur qui supprime l'auto-activité de l'exécuteur RPS4 en l'absence d'effecteurs, et active RPS4 en présence des protéines effectrices. La paire de NB-LRR RGA4/RGA5 détecte également deux protéines effectrices sans séquence apparentée, AVR-Pia et AVR1-CO39 de *M. oryzae*. Les deux effecteurs se lient au domaine HMA intégré dans RGA5 et ce qui active ensuite les réponses immunitaires par l'intermédiaire de RGA4 (Césari et al. 2013, 2014). Une intégration de domaine similaire a été trouvée dans une autre paire de NB-LRR du riz, Pik-1/Pik-2, dans laquelle le domaine HMA est intégré dans Pik-1 et est capable de lier la protéine effectrice AVR-Pik. La détection des allèles AVR-Pik par Pik-1 active les réponses immunitaires par l'intermédiaire de l'exécuteur apparié Pik-2 (Ashikawa et al. 2008; Maqbool et al. 2015). Il est intéressant de noter qu'une étude récente a révélé que 20 % des NB-LRR du génome du riz Tetep sont appariés (Wang et al. 2019c), ce qui suggère que le système NB-LRR apparié pourrait contribuer de manière significative à la résistance aux maladies de certains cultivars de riz.

3. Transduction du signal éliciteur

Il est important de noter que la PTI et de l'ETI diffère par le mode de reconnaissance du premier signal (MAMP ou ET3), par la puissance de la réponse, sa localisation, sa vitesse et la durée de sa mise en place. Toutefois une grande partie des voies de signalisation conduisant à leur mise en place respective sont partagées. Elles conduisent toutes deux à l'activation de diverses voies de transduction de signaux impliquant les MAPK ("mitogen-activated protein kinases"), les espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'acide salicylique (SA), l'acide jasmonique (JA), l'éthylène (ET), et d'autres phytohormones et molécules de signalisation. Ces phénomènes aboutissent à la production de composés antimicrobiens et de métabolites secondaires, à la modification de la structure cellulaire par le dépôt de callose et à la mort cellulaire programmée en réponse au stress (Pedley and Martin 2005; Meng and Zhang 2013).

a) L'influx de Ca^{2+}

L'une des premières réponses physiologiques connues à la perception des MAMP/DAMP, relative à la PTI, est un afflux de Ca^{2+} extracellulaire dans le cytosol, qui se produit entre 30 sec et 2 min et atteint un pic vers 4-6 min (Jeworutzki et al. 2010; Ranf et al. 2011; Nomura et al. 2012). En plus de l'influx transitoire et rapide de Ca^{2+} dans le cytosol lors de la perception de MAMP, Nomura et ses

collaborateurs (2012) ont observé une deuxième augmentation de longue durée (de $t_0 + 8$ min à plus de $t_0 + 30$ min dans le cas du flg22) du niveau de Ca^{2+} libre dans le stroma du chloroplaste. La signalisation relative à la mise en place de l'ETI, a contrario, induit un influx de Ca^{2+} plus lent mais plus durable (Grant et al. 2000). Le Ca^{2+} est considéré comme un messager secondaire interagissant, en outre, avec diverses protéines médiatrices de la réponse immunitaire (Bigéard et al. 2015).

b) La production de ROS

Les ROS, qui jouent un rôle clé dans la défense et la signalisation, sont induits à la fois dans la PTI et l'ETI. Alors que la PTI induit une émission de ROS rapide et transitoire, appelée "burst oxydatif", l'ETI est associée à une émission de ROS biphasique, le second pic étant généralement beaucoup plus fort et plus durable que le premier (Chai and Doke 1987; Levine et al. 1994). Ainsi, 2-3 min après la perception des MAMP, une production extracellulaire de ROS survient et atteint son maximum vers 10-14 min (Chinchilla et al. 2007; Nühse et al. 2007; Ranf et al. 2011). Chez *Arabidopsis*, la NADPH oxydase localisée dans la membrane plasmique, appelée "respiratory burst oxidase homolog D" (RBOHD), est responsable de cette explosion de ROS induite par les MAMP (Zhang et al. 2007; Nühse et al. 2007; Ranf et al. 2011). De multiples protéines kinases associées à la PTI, y compris BIK1/PBL, CPK, SIK1 et CRK2, phosphorylent directement RBOHD pour déclencher la production extracellulaire de ROS dans *Arabidopsis* (Li et al. 2014; Kadota et al. 2014; Kimura et al. 2020; Lee et al. 2020). RBOHD joue également un rôle de médiateur dans la production de ROS au cours de l'ETI initiée par RPS2 et RPM1, et la phosphorylation de RBOHD aux résidus Ser³⁴³ et Ser³⁴⁷ est importante pour la production de ROS à la fois dans la PTI et l'ETI (Torres et al. 2002; Kadota et al. 2019; Yuan et al. 2021). Deux études récentes ont montré que le deuxième "burst oxydatif", pendant l'ETI, nécessite de manière surprenante la perception des MAMP par la plante (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021). Cela suggère que la deuxième phase de ROS associée à l'ETI dépend de la signalisation découlant des PRR. En outre, cette signalisation PRR-dépendante est nécessaire pour la phosphorylation maximale de RBOHD pendant l'ETI, tandis que la signalisation NB-LRR-dépendante (relative à l'ETI) régule à la hausse les niveaux de RBOHD (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021), ce qui souligne la double exigence de la signalisation PRR- et NB-LRR- dépendante pour assurer une production robuste de ROS pendant l'ETI.

c) Les MAP kinases

Outre la phosphorylation des complexes de récepteurs immunitaires mentionnée précédemment, qui se produit en quelques secondes, d'autres protéines kinases sont rapidement activées lors de la perception des MAMP. La majorité d'entre elles appartiennent aux familles de protéines kinases CDPK ("Ca²⁺-induced calcium-dependent protein kinases"), MAPK et AGC (Protein kinase A, G et

C) et sont considérées comme des éléments clés permettant la régulation d'un large spectre de cibles protéiques, telles que les facteurs de transcription, les enzymes métaboliques, les protéines de la membrane plasmique et les protéines du cytosquelette (Nühse et al. 2007; Rayapuram et al. 2014). Le génome d'*Arabidopsis* code pour 20 MAPK, 10 MAPKK (MAPK Kinases), et 60 MAPKKK (MAPKK Kinases) (Ichimura et al. 2002). Les MAPKKK, MAPKK, et MAPK constituent des modules de signalisation qui traduisent les stimuli extracellulaires en signaux intracellulaires, par la phosphorylation de protéines intermédiaires. Ces protéines ont été largement étudiées dans le contexte des interactions plantes-pathogènes (Meng and Zhang 2013). Chez *A. thaliana* lors d'un traitement par le peptide flg22 et d'autres MAMP, quatre MAPK (MPK3, MPK4, MPK6 et MPK11) sont activées dans les 1 à 2 min pour atteindre un pic d'activité à 10-15 min, qui diminue ensuite rapidement (Nühse et al. 2000; Zipfel et al. 2006; Bethke et al. 2012). L'activation de la signalisation NB-LRR-dépendante déclenche une activation des MAPK plus lente mais plus durable, comme pour l'influx de Ca^{2+} (Tsuda et al. 2013; Su et al. 2018). Alors que les kinases de la famille RLCK phosphorylent directement les MAPKK après la perception des MAMP au cours de la PTI (Yamada et al. 2016; Yan et al. 2018; Bi et al. 2018), la façon dont la cascade de MAPK est activée au cours de l'ETI reste à élucider. De manière intéressante, RRS1/RPS4 et RPP4 qui sont des TNL, ne peuvent pas déclencher l'activation de MAPK chez des lignées d'*Arabidopsis* transgéniques exprimant AvrRps4 ou AvrRpp4 en l'absence de signalisation PRR-dépendante (Ngou et al. 2020, 2021), ce qui suggère que la phosphorylation des MAPK associée aux TNL est dépendante de la voie de signalisation de la PTI. Cependant, l'activation de la cascade de MAPK par les CNL tels que RPS2, RPS5 et RPM1, semble être indépendante de la signalisation médiée par les PRR (Yuan et al. 2021), ce qui indique que les PRR et les CNL pourraient activer la cascade de MAPK par des mécanismes différents (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021).

d) Les hormones végétales

Enfin, l'implication des phytohormones dans la régulation des réponses de défense aux stress biotiques des plantes ne peut être exclue. L'ETI et la PTI induisent des voies de signalisation spécifiques dans lesquelles trois phytohormones sont cruciales, à savoir l'acide salicylique (SA), le jasmonate (JA) et l'éthylène (ET). Les voies de régulation du SA sont le plus souvent induites par les agents pathogènes biotrophes et héli-biotrophes. De même, les voies de régulation du JA et de l'ET sont en général induites par les agents nécrotrophes et les ravageurs masticateurs (Bari and Jones 2009; De Vleeschauwer et al. 2014). D'autres phytohormones, comme l'acide abscissique (ABA), l'auxine (AIA), les gibbérellines (GA), les cytokinines (CK) et les brassinostéroïdes (BR), modulent l'immunité principalement par des interactions avec le SA et le JA. Les voies de signalisation médiées par ces phytohormones interagissent de manière antagoniste ou synergique.

Les interactions hormonales forment collectivement des réseaux de signalisation, qui interviennent dans l'immunité ainsi que dans la croissance et les réponses au stress abiotique de la plante (Pieterse et al. 2009). L'infection par un agent pathogène biotrophe provoque une accumulation accrue de SA chez les eudicotylédones comme *A. thaliana*, le fraisier, le poivron et la pomme de terre (Halim et al. 2007; Yang et al. 2011; Fu et al. 2011; Grellet-Bournonville et al. 2012; Kim and Hwang 2014), mais cela ne semble pas être le cas chez les monocotylédones. Cependant, des expériences montrent que l'application exogène de SA, ou de son analogue synthétique le benzothiadiazole (BTH), déclenche des réponses immunitaires et une résistance contre les pathogènes biotrophes et hémibiotrophes aussi bien chez les eudicotylédones que chez les monocotylédones (Yang et al. 2011; Grellet-Bournonville et al. 2012; Sugano et al. 2013; Ueno et al. 2015). L'application de JA déclenche l'immunité contre les pathogènes nécrotrophes chez *A. thaliana*, le riz et *Medicago truncatula* (Spoel et al. 2007; Taheri and Tarighi 2010; Gaige et al. 2010). En plus des pathogènes nécrotrophes, le JA est associé à la défense contre les herbivores chez de nombreux angiospermes, tels que *A. thaliana*, le maïs, le peuplier, *Picea sitchensis*, *Nicotiana attenuata* et *M. truncatula* (Howe and Jander 2008). L'ET, quant à lui, contribue positivement ou négativement à l'immunité selon l'agent pathogène, les conditions environnementales et l'espèce végétale. Par exemple, chez le soja, l'insensibilité à l'ET augmente la sévérité de la maladie causée par le champignon nécrotrophe *Rhizoctonia solani* (Hoffman et al. 1999), alors que l'expression accrue de l'enzyme ACS2, impliquée dans la voie de biosynthèse de l'ET, favorise la résistance contre *R. solani* chez le riz (Helliwell et al. 2013). Ainsi, comme cela a été signalé chez *A. thaliana*, les rôles positifs de l'ET dans la résistance aux nécrotrophes semblent répandus chez les angiospermes (Glazebrook 2005). L'ET contribue également à la résistance contre les pathogènes biotrophes et hémibiotrophes chez l'arabette, le soja, le tabac et le riz (Hoffman et al. 1999; Shibata et al. 2010; Helliwell et al. 2013; Tintor et al. 2013). Chez *A. thaliana*, la perception du peptide bactérien flg22 déclenche la production d'ET par l'augmentation de l'expression du gène ACS et la stabilisation de la protéine (Liu and Zhang 2004; Denoux et al. 2008). Cependant, il existe de nombreux exemples dans lesquels l'ET favorise la sensibilité aux maladies contre les biotrophes et les hémibiotrophes (Lund et al. 1998; Chen et al. 2009b, a; Shen et al. 2011; Liu et al. 2016). Cette dichotomie peut être expliquée par les interactions complexes entre la voie de signalisation de l'ET avec celles du SA et JA (Pieterse et al. 2009).

En plus des mécanismes de défense induits au site de l'infection, les plantes peuvent également activer des réponses immunitaires systémiques qui confèrent un état de résistance généralisé au niveau de la plante entière. Les mécanismes de signalisation de la défense systémique comprennent la résistance systémique induite ("Systemic Induced Resistance" ou SIR), qui est déclenchée en réponse à la colonisation des racines par des microbes bénéfiques (Van Wees et al. 2008), et la

résistance systémique acquise ("Systemic Acquired Resistance" ou SAR), qui est activée en réponse à une infection par un pathogène (Spoel and Dong 2012; Kachroo and Robin 2013; Gao et al. 2014). L'induction de la résistance systémique acquise implique la génération d'un ou de plusieurs signaux mobiles au site de l'infection primaire, qui se déplacent vers les tissus distaux et préparent la plante contre les infections futures. En 1993, il est découvert que le SA est un signal important dans l'induction de la SAR (Gaffney et al. 1993). Cette hormone stimule la voie SAR en favorisant l'expression des gènes *PR*, qui à leur tour rendent la plante tolérante contre une large gamme de pathogènes (Grant and Lamb 2006; Fu and Dong 2013; Ádám et al. 2018).

4. Contournement de la résistance (ETS)

Pour contourner les mécanismes de défense mis en place par les plantes, les agents pathogènes ont acquis la capacité à déjouer la PTI et/ou l'ETI via l'utilisation et la diversification de leurs effecteurs. Ces protéines permettent l'atténuation ou la suppression des réponses de défense primaires permettant ainsi la multiplication de l'agent pathogène, la colonisation des tissus de l'hôte et en conséquence le développement de la maladie. On parle d'ETS pour "Effector Triggered Susceptibility" ou Sensibilité médiée par les Effecteurs (Jones and Dangl 2006; Balmer et al. 2013). En 2020, Mondal et ses collaborateurs démontrent le rôle clés de trois effecteurs Xop ("Xanthomonas outer protein") dans la pathogénèse, permettant l'évitement de la PTI, de *X. axonopodis punicae* (*Xap*) chez le grenadier. En effet les effecteurs XopC2, XopL et XopN suppriment l'induction du dépôt de callose, la production de ROS au niveau du site d'infection, régulent négativement, directement ou indirectement, l'expression de certains gènes de défenses comme *FRK1*, *GST1*, *PR1*, *PR2*, *PR5* et *WRKY29* (Kumar et al. 2016; Mondal et al. 2020), favorisant la prolifération de *Xap* chez le grenadier.

Chez *X. euvesicatoria*, pathogène de la tomate, l'effecteur XopD joue plusieurs rôles dans la mise en place de l'ETS et le développement de la maladie. Kim et ses collaborateurs mettent en évidence l'implication de XopD dans l'altération des voies de signalisation du SA et de l'ET (Kim et al. 2008, 2013). XopD cause une réduction de l'expression des gènes associés aux réponses de défense, ainsi que de la production de SA. Il permet également la répression de la transcription des gènes induits par le SA et le JA, permettant la prolifération bactérienne, se traduisant par un retard du développement des symptômes dans les feuilles de tomates (Kim et al. 2008). Par ailleurs, XopD réprime directement la production d'ET et les défenses stimulées par l'ET en ciblant directement le facteur de transcription (TF) SIERF4 de la tomate. XopD colocalise avec SIERF4 dans les compartiments subnucléaires et effectue une désuoylation de la lysine 53 de SIERF4 causant sa déstabilisation et par conséquent une diminution du niveau de SIERF4 et une réduction de sa transcription (Kim et al. 2013).

En 2018, Medina et ses collaborateurs ont investigué le rôle des effecteurs Xop de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*), pathogène du manioc, dans la virulence et la modulation de l'immunité. Ils rapportent que parmi les 17 ET3 Xop de la souche *Xpm* CIO151, XopR, XopAO1 et AvrBs2 suppriment la PTI, mais que la suppression de l'ETI a seulement été observée par XopE4 et XopAO1. Grâce à l'expression hétérologue de XopR, XopAO1 et AvrBs2 dans *P. fluorescens* 55 (*Pf55*), et l'inoculation de ce dernier sur le tabac, ils démontrent que ces trois Xop provoquent une réduction du dépôt de callose (Medina et al. 2018). Toujours dans le même système hétérologue *Pf55*, les Xop de *Xpm* CIO151 sont testés pour voir leur capacité à réduire la HR provoquée par l'effecteur HopA1 de *Pf55* sur le tabac. Ces expériences montrent que deux d'entre eux, XopE4 et XopAO1 permettent respectivement de diminuer et d'abolir totalement la HR provoquée sur le tabac par HopA1. Chez le riz, le dépôt de callose et la production de ROS sont supprimés par l'effecteur XopR de *Xoo* (Verma et al. 2019).

II. Cartographie génétique et localisation de locus à effet quantitatif (QTL)

Une grande partie des résistances à *X. oryzae* pv. *oryzae*, ainsi qu'à d'autres pathogènes, ont été identifiées par cartographie génétique (Albar et al. 2003; Djedatin et al. 2016; Huerta et al. 2021). Cette méthode, basée sur le taux de recombinaison génétique entre plusieurs loci ou gènes, permet de déterminer la position relative de ces derniers sur un chromosome, ou à plus large échelle sur un génome entier. Son unité de distance est le centimorgan (cM)². Par ailleurs, plusieurs études ayant permis la détection de loci intervenant dans divers mécanismes tels que la résistance à la submersion, aux pathogènes ou encore la floraison, reposent sur la cartographie de locus à effet quantitatif (ou QTL, de l'anglais "Quantitative Trait Locus") (Hirabayashi et al. 2015; Raghavan et al. 2017; Ramakrishnan et al. 2019). Dans les paragraphes suivants sont rappelés brièvement les principes de cette méthode.

1. Généralités sur la cartographie génétique

En génétique un caractère phénotypique peut être gouverné par un ou plusieurs gènes, on parle alors de caractère mono ou polygénique, respectivement. Comme exemple de caractère monogénique connu, il existe celui exposé par Gregor Mendel chez le petit pois (*Pisum sativum* L.). La forme du grain du pois est gouvernée par une seule gène qui, en fonction de sa combinaison d'allèles, donne un pois lisse ou ridé. En ce qui concerne un caractère polygénique, son phénotype est le résultat de

² Rappelons que le cM est l'unité de distance utilisée en cartographie génétique. Elle vaut le centième du Morgan, qui lui-même correspond à la distance entre deux loci, nécessaire pour qu'il y ait en moyenne un "crossing over" entre ces loci par méiose. Pour des distances très faibles, le cM équivaut à une fréquence de recombinaison de 1%. Pour des distances plus élevées, il faut tenir compte des doubles recombinaisons non observées. On utilise alors une fonction de cartographie pour convertir les fréquences de recombinaison en cM, par exemple celles de Haldane ou de Kosambi (Haldane 1931, Kosambi 1944).

l'expression de plusieurs gènes, comme dit précédemment. Dans ce cas, chaque gène contribue en partie au phénotype final observé; on parle alors de loci/locus à effet quantitatif, ou QTL.

Depuis Mendel, et Morgan, on sait qu'il est possible de compter et localiser les facteurs, autrement dit les gènes, qui gouvernent des caractères monogéniques, à phénotypes discrets pouvant être catégorisés en deux ou trois modalités, par exemple les modalités "lisse" et "ridé" chez le pois. Ce sont les travaux pionniers de l'équipe de Morgan qui ont permis d'établir, dès 1913, la première carte de liaison génétique composée de six gènes chez la drosophile (Sturtevant 1913). Une carte de liaison génétique permet de représenter les positions relatives des gènes sur un même chromosome. L'ordre de ces gènes est alors déterminé en fonction de leur groupe de liaison, ce dernier représentant l'ensemble des gènes, loci ou marqueurs qui sont liés entre eux. Cette organisation repose sur une méthode simple basée sur la "force de la liaison" ("strength of linkage"), qui n'est autre que la fréquence de recombinaison.

Cette méthode ne permet pas, cependant, de localiser les facteurs de caractères polygéniques à variation continue, nommés caractères quantitatifs, qui ne peuvent se réduire en catégories. Dans une population issue d'un croisement, la distribution de tels caractères s'approchera d'autant plus d'une distribution normale, aussi appelée gaussienne, que le nombre de facteurs qui les composent est grand. C'est le modèle infinitésimal. En 1923, Sax a été le premier à présenter une méthode permettant d'associer un caractère qualitatif, ou facteur, à un caractère quantitatif, ou variable expliquée. Il montra ainsi que la couleur du grain du haricot commun, *Phaseolus vulgaris*, pouvait expliquer en partie la variation du poids du grain (Sax 1923). Évidemment, ce n'était pas la couleur du grain elle-même qui était liée physiologiquement au poids du grain, mais ce gène devait être lié génétiquement à un autre, qui fut découvert par la suite (Johnson et al. 1996).

2. La détection de QTL

Il s'avère que Sax avait eu un peu de chance, car la probabilité qu'un des rares gènes cartographiés à l'époque chez le haricot soit localisé suffisamment près du facteur réel qui influence le poids du grain était faible. D'autre part, il n'avait pas accès aux autres gènes qui pouvaient être liés aux autres facteurs du poids du grain. Aujourd'hui, cette contrainte est levée puisqu'on établit des cartes génétiques au moyen, non plus de gènes, mais de marqueurs moléculaires dont les premiers représentants furent les isoenzymes, puis des marqueurs directement basés sur les variations de l'ADN (Mackill et al. 1993). Les marqueurs moléculaires sont un type de marqueur génétique défini par une séquence d'ADN particulière utilisée pour baliser les chromosomes. Un marqueur moléculaire possède un emplacement physique identifiable (locus) sur un chromosome, ce qui permet de suivre la transmission d'un segment de chromosome d'une génération à l'autre. Les marqueurs sont utilisés en tant que première étape dans la recherche de la position et de l'identité

d'un gène. Largement utilisés en génétique humaine, végétale, animale et microbienne, ils permettent de montrer des variations (polymorphismes) de la séquence d'ADN entre deux individus. Comme exemple de marqueurs moléculaires on peut citer rapidement les RAPD ("Random Amplification of Polymorphic DNA"), les RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism"), les AFLP ("Amplified Fragment Length Polymorphism"), puis les microsatellites ou SSR ("Simple Sequence Repeat"), et les plus communément utilisés aujourd'hui, les SNP ("Single Nucleotide Polymorphism") (Dar et al. 2019). De par leur abondance, les marqueurs moléculaires présentent l'énorme avantage de pouvoir reconstituer une carte génétique qui couvre l'ensemble du génome, et ceci en analysant la descendance d'un seul croisement. Les SNP se comptent la plupart du temps par millions entre deux génomes d'une même espèce pris au hasard. Dans une étude de QTL moderne, on peut donc compter sur des marqueurs situés "très proche" de tous les facteurs génétiques qui composent le caractère quantitatif. De plus, on peut aussi évaluer la contribution relative, c'est-à-dire la part de variance du caractère expliquée par chacun de ces facteurs. Enfin, dans certains schémas de croisement, on peut estimer pour chacun des facteurs, la relation entre l'additivité et la dominance du locus considéré.

Contrairement aux analyses de type GWAS ("Genome-Wide Association Analysis"), basées sur l'étude des variations génétiques et phénotypiques chez de nombreux individus, la précision de la localisation des QTL dans des descendance issues de croisement peut s'avérer ne pas être très bonne en fonction de la taille de la population. Selon l'ampleur de l'effet d'un QTL sur le caractère, la taille de la population ou encore l'incertitude sur le phénotype, son intervalle de support ("support interval"), c'est-à-dire la taille de la région de haute probabilité de présence du QTL, varie. Ainsi, cet intervalle peut couvrir quelques centaines de kilobases à plusieurs mégabases. En revanche, cette méthode est très robuste, en ce sens qu'elle génère beaucoup moins de faux positifs que le GWAS. Cette approche peut être avantageusement complétée par une étude de cartographie fine, aussi appelée "fine mapping" en anglais, qui permet de localiser le QTL étudié très précisément. La cartographie fine permet d'analyser, dans la région identifiée, les variations génétiques particulières qui sont susceptibles d'influencer de manière causale le trait examiné.

Par la suite, si un génome annoté est disponible pour l'espèce étudiée, on peut alors projeter les bornes du nouvel intervalle de support, largement réduit grâce à la cartographie fine, sur ce génome et en extraire la liste des gènes présents dans cette région. L'annotation fonctionnelle de ces gènes permet ensuite d'identifier ceux qui sont les plus probablement impliqués dans le caractère; on parle de gènes candidats. Ces candidats pourront être testés par des analyses de complémentation fonctionnelle, en introduisant un gène par transformation génétique, ou par des analyses d'inactivation de fonction, par exemple en créant des mutants dont les gènes candidats sont

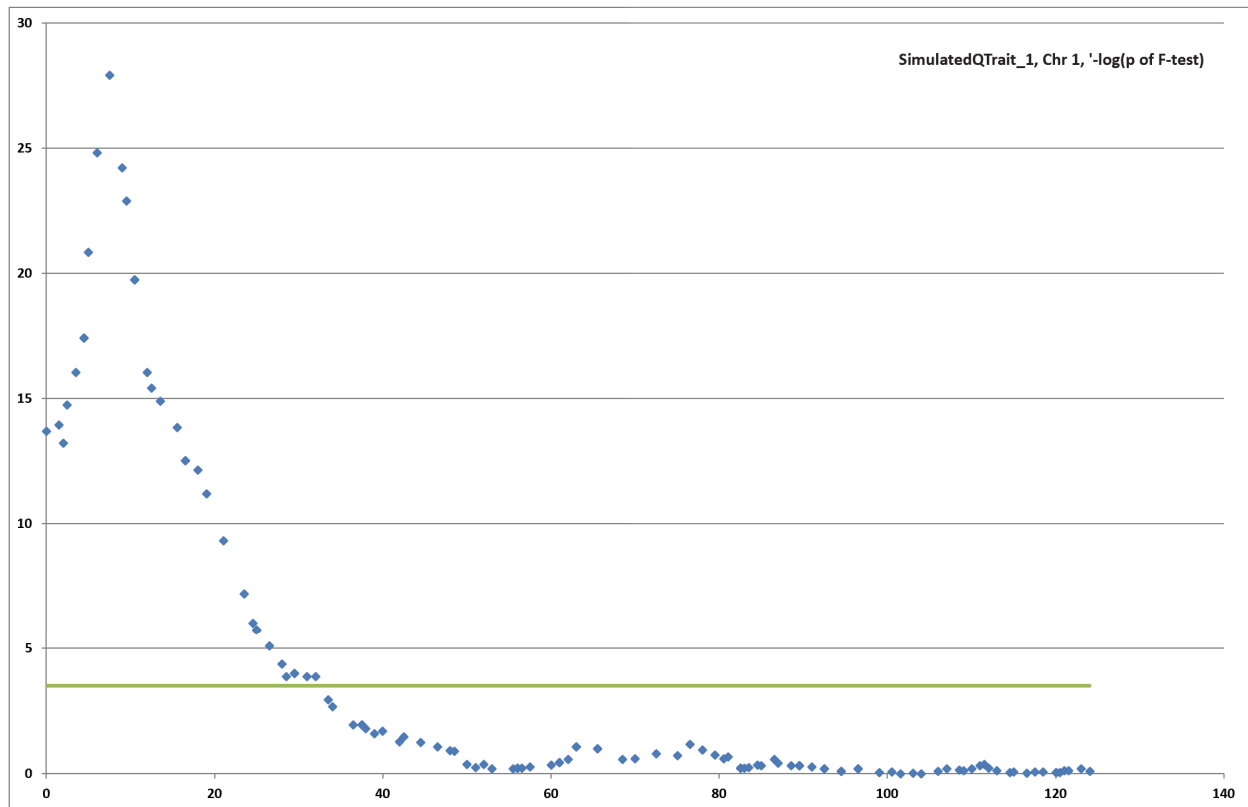


Figure 6. Analyse par "single marker regression" (SMR) d'un caractère hypothétique dans une population F_2 simulée de 100 individus.

L'axe des abscisses représente la position en centimorgans (cM) sur un chromosome, l'axe des ordonnées est la valeur $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F. Le QTL simulé est placé arbitrairement à la position 10 cM. Le chromosome simulé mesure 120 cM. Des marqueurs sont placés tous les 1 cM.

inactivés par réduction de leur expression ("knock down") ou bien par délétion ou mutation ciblée ("knock out"). Dans les deux cas, la validation fonctionnelle du candidat est obtenue si le phénotype du mutant ou du transformant est différent du phénotype sauvage. La porte est alors ouverte pour étudier plus précisément le rôle du gène validé, par des études d'expression/co-expression, de protéomique, etc.

3. Les modèles d'analyses

De très nombreux ouvrages et articles scientifiques ont été consacrés aux études de QTL, sur la partie théorique (les méthodes statistiques) et sur l'application à des organismes pour lesquels on peut effectuer des croisements (plantes, animaux, champignons) ou analyser des familles (Homme). Chez certaines plantes, les pérennes en particulier, les animaux, ou l'Homme, une étude de QTL nécessite souvent de combiner l'information de plusieurs familles, dont l'analyse requiert des modèles statistiques complexes. Chez d'autres plantes, souvent des annuelles comme le riz, on peut générer aisément des lignées pures, puis des descendance à grand effectif à partir d'un seul croisement, ce qui permet d'utiliser des modèles d'analyse bien plus simples mais tout aussi puissants.

Les premières méthodes de QTL étaient basées sur des modèles extrêmement simples (Soller et al. 1976; Edwards et al. 1987). Ces modèles testent l'effet sur le caractère de chaque marqueur pris individuellement ("Single Marker Regression", SMR). Il s'agit tout simplement d'un test F, dans lequel on compare les moyennes phénotypiques, en tenant compte des variances, des deux ou trois, selon le croisement, classes alléliques du marqueur. Si le test F est déclaré significatif, alors on sait que le marqueur est lié au QTL. Le seuil à retenir pour déclarer le test F significatif peut être calculé analytiquement ou empiriquement (permutations). On répète ce test pour tous les marqueurs, éventuellement ordonnés sur les groupes de liaison si on a pu construire la carte génétique. On peut alors construire un graphique où x est la position du marqueur et y est la valeur du test F, ou de $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F. Ce graphique permet de visualiser aisément les pics qui indiquent la présence la plus probable du QTL (Figure 6).

Comme, dans les années 1980, les cartes génétiques étaient construites à partir de marqueurs RFLP, onéreux et chronophages, les intervalles séparant les marqueurs les uns des autres étaient "grands", pouvant atteindre la trentaine de centimorgans. Si, par exemple un QTL est situé dans un intervalle de taille importante, on ne pourra donc pas connaître sa position précise. Lander et Botstein, en 1988, ont posé les fondements de la cartographie par intervalle ("Interval Mapping", ou SIM pour "Simple Interval Mapping"), qui permet d'estimer la position d'un QTL dans un intervalle en utilisant l'information des deux marqueurs qui le définissent (Lander and Botstein 1989). La

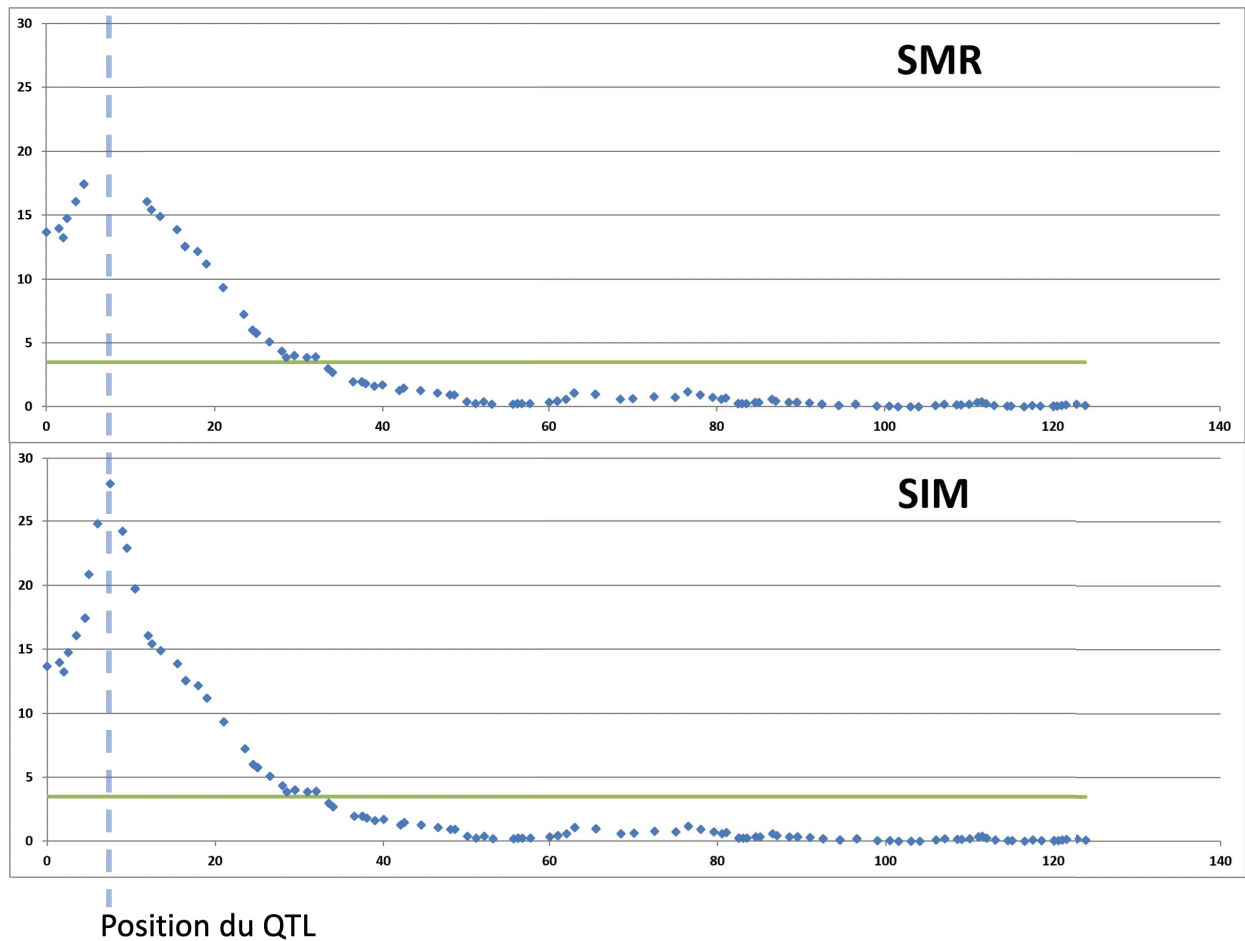


Figure 7. Avantage de l'analyse "simple interval mapping" (SIM) par rapport au SMR.

L'axe des abscisses représente la position en centimorgans (cM) sur un chromosome, l'axe des ordonnées est la valeur $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F (SMR), ou du LOD score (SIM). Les conditions de simulations sont identiques à la Figure 6, excepté que, pour l'analyse SMR, des marqueurs ont été supprimés afin de simuler un intervalle sans marqueurs. La méthode SIM permet de localiser le QTL exactement à la position simulée.

méthode est basée sur la méthode du LOD score, LOD signifiant "Logarithm of the Odds". C'est donc un rapport de vraisemblance, mais calculé avec des logarithmes en base 10. Ce LOD est donc le \log_{10} du rapport de vraisemblance de présence d'un QTL sur la vraisemblance d'absence de QTL. Il est calculé sur une maille de positions prédéfinies (des marqueurs virtuels), par exemple à chaque cM. Puisqu'on ne connaît l'état allélique des chromosomes qu'au niveau des positions des véritables marqueurs, il est nécessaire de l'inférer au niveau de tous les points de la maille. On calcule donc, en chaque marqueur virtuel la probabilité pour chaque individu d'être homozygote pour l'un ou l'autre allèle, ou hétérozygote. Cette probabilité est calculée en fonction de l'état des marqueurs bordants et du phénotype. Le LOD score est alors calculé à partir de ces probabilités et des valeurs phénotypiques. On peut, comme pour l'analyse SMR, représenter graphiquement ce LOD score en fonction de la position sur le chromosome. On voit clairement sur la Figure 7 l'avantage de l'interval mapping par rapport au SMR. Évidemment, l'intérêt de cette méthode est moindre aujourd'hui, puisqu'il devient rare que les cartes ne soient pas bien saturées de marqueurs. Enfin, de nombreuses améliorations ont été apportées à la méthode SIM. En particulier, une famille de méthodes basées sur la prise en compte du "bruit" généré par l'ensemble des facteurs génétiques sur un QTL donné : un QTL peut en effet être masqué partiellement ou totalement par l'effet d'autres QTL. Ces méthodes, dont font partis le "Composite Interval Mapping" (CIM, (Jansen and Stam 1994; Zeng 1994), l' "Inclusive Composite Interval Mapping" (ICIM, (Zhang et al. 2012), ou encore le "Multiple Interval Mapping" (MIM, (Kao et al. 1999), sont toutes basées sur la prise en compte de cofacteurs, qui ne sont autre que les QTL, à l'exception de la région sous analyse. Plusieurs approches sont utilisées pour la détection puis la prise en compte des cofacteurs ("forward", "backward", "stepwise"), ce qui aboutit parfois à des différences conséquentes quant aux QTL détectés et leurs effets.

III. Le riz

1. L'importance du riz dans le monde: une céréale majeure dans l'alimentation

Le riz, *Oryza* spp., est une culture céréalière qui constitue de nos jours la base de l'alimentation pour plus de la moitié de la population mondiale. L'augmentation continue de cette population engendre de nombreux défis pour la production de cette céréale.

En 2018, plus de 165 millions d'hectares étaient consacrés à la production de riz, et plus de 780 millions de tonnes de riz ont été produites dans le monde (Figure 8, FAO 2018). Cette année (2021) la Chine est, comme toujours, le plus grand pays producteur de riz au monde avec 211 090 813 de tonnes de volume de production par an. L'Inde arrive en deuxième position avec 158 756 871 de tonnes de production annuelle et la France avec 81 075 tonnes est classée à 80 (<https://www.atlasbig.com/fr-fr/pays-par-production-de-riz>). A l'heure actuelle les principaux

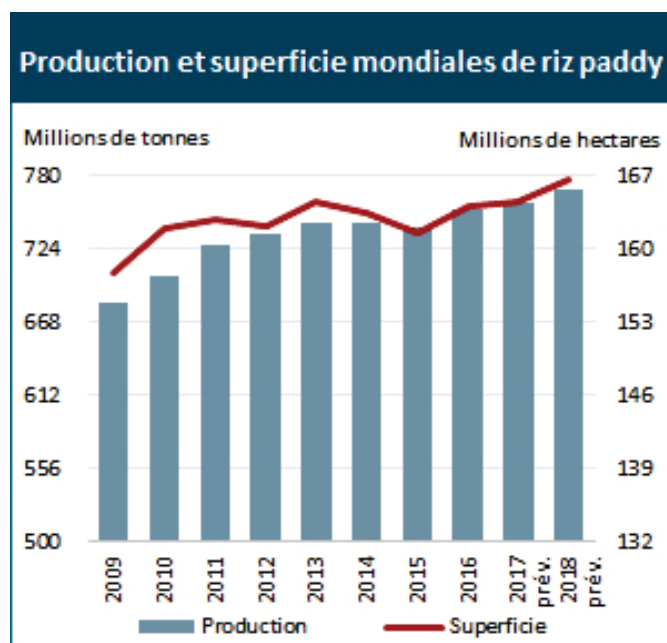


Figure 8. Production et superficie mondiales de riz paddy entre 2009 et 2018.

Suivi du marché du riz de la FAO, Avril 2018 (<http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/riz/fr/>)

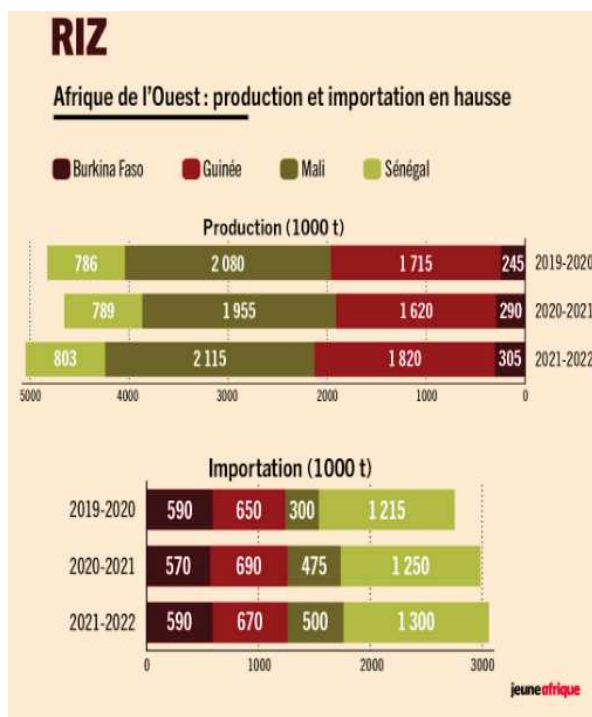


Figure 9. Production et importation du riz en Afrique de l'ouest.

source: <https://www.jeuneafrique.com/1211142/economie/riz-cacao-cafe-coton-lafrique-de-louest-face-a-la-flambee-des-cours/>

exportateurs de riz sont les États-Unis, l'Inde, le Pakistan, la Thaïlande et le Vietnam. La consommation mondiale de riz estimée pour 2020-2021 s'élève à 513 millions de tonnes, pour une consommation par habitant de près de 54 kg par an (FAO 2021). En Afrique de l'Ouest cette année la production de riz s'est vue diminuée, notamment en Guinée et au Mali, tandis que l'importation y était en hausse. Les prévisions pour l'année suivante prédisent cependant une nouvelle augmentation de la production et de l'importation du riz dans les divers pays d'Afrique de l'Ouest (Figure 9). Dans cette région de l'Afrique l'autosuffisance en riz est un sujet qui fait beaucoup parler ces dernières années. Bien que le Nigeria ait réduit de façon significative ses importations entre 2013 et 2019, il reste encore des efforts à faire en matière d'investissements pour amener son agriculture à produire suffisamment afin de parvenir à l'autosuffisance alimentaire. Côté Mali, une quasi-autonomie a réussi à être maintenue avec plus de 3 millions de tonnes de riz produites en 2018, selon la FAO. Concernant le Sénégal et la Côte d'Ivoire, depuis une dizaine d'années maintenant, une stratégie nationale portant sur la culture du riz a été adoptée, permettant de rééquilibrer le ratio importations/production nationale au Sénégal de 80%-20% à 55%-45% en 2018 (<https://www.jeuneafrique.com/mag/1033825/economie/nigeria-senegal-mali-quelles-strategies-pour-atteindre-lautosuffisance-alimentaire/>). Aujourd'hui, un grand nombre de menaces mettent en danger les cultures de riz causant de lourdes répercussions sur les rendements. Parmi elles, on retrouve différents stress biotiques (virus, bactéries, champignons, herbivores, insectes, ...), mais aussi une panoplie de stress abiotiques (sécheresse, inondation, pollution des sols en métaux, ...). Ces menaces représentent un enjeu majeur pour la sécurité alimentaire mondiale, il devient donc indispensable de combiner nos connaissances en science du végétale et en pratiques agricoles pour éviter ces énormes pertes de rendement.

2. Le genre *Oryza*

a) Généralités

Le riz, tel qu'on le connaît, est une monocotylédone de la famille des Poacées, principalement cultivée dans les zones tropicales, subtropicales et tempérées chaudes. Cette famille est divisée en deux clades, PACMAD (*Panicoideae*, *Aristidoideae*, *Chloridoideae*, *Micrairoideae*, *Arundinoideae* et *Danthonioideae*) et BOP (*Bambusoideae*, *Oryzoideae*, *Pooideae*), et comprend environ 12 000 espèces, dont des espèces cultivées telles que le sorgho, le maïs, le blé et le riz. La sous-famille des *Oryzoideae* se compose elle-même de quatre tribus (*Streptogyneae*, *Ehrharteae*, *Phyllorachideae*, *Zizaniinae* et *Oryzinae*) dont l'une d'elle, *Oryzinae*, héberge les genres *Oryza* et *Leersia*, très proches taxonomiquement (Soreng et al. 2015).

Le genre *Oryza*, auquel appartient le riz, comprend 27 espèces dont les deux seules cultivées à l'heure actuelle sont *O. glaberrima* et *O. sativa*, domestiquée respectivement en Afrique et en Asie.

Ces 27 espèces d'*Oryza* comprennent 11 types de génomes différents, dont six sont diploïdes ($n = 12$: AA, BB, CC, EE, FF et GG) et cinq sont polyploïdes ($n = 24$: BBCC, CCDD, HHJJ, HHKK et KKLL). Parmi ces espèces huit possèdent un génome AA : les espèces sauvages *O. longistaminata*, *O. meridionalis*, *O. glumaepatula*, *O. barthii*, *O. nivara* et *O. rufipogon*, et les deux espèces cultivées *O. glaberrima* et *O. sativa* (Stein et al. 2018). Même si des barrières d'hybridation sont présentes entre ces différentes espèces, il arrive que le croisement interspécifique soit possible si des conditions favorables sont réunies. Par conséquent, la diversité des espèces possédant le génome A procure une ressource génétique importante, que l'on peut exploiter pour l'amélioration variétale.

b) Caractéristique des deux espèces cultivées

- *Oryza glaberrima*

En Afrique de l'Ouest, le riz sauvage *O. barthii* a été domestiqué de manière indépendante, par rapport à *O. sativa*, pour devenir le riz cultivé *O. glaberrima* il y a environ 3 000 ans (Vaughan et al. 2008). Deux grandes hypothèses contradictoires ont été proposées concernant sa domestication en Afrique. La première hypothèse, émise par Porter en 1962, propose une domestication centrée, géographiquement localisée, le long du fleuve Niger, suivie de deux événements de diversification secondaire : l'un le long de la côte de ce qui est aujourd'hui le Sénégal et la Gambie, et l'autre dans les hautes terres de Guinée (Porter 1962). C'est ce qu'on a appelé le "modèle de transition rapide". L'autre hypothèse, émise par Harlan en 1976, propose que le riz africain et d'autres cultures telles que le sorgho et le millet perlé ont subi une domestication graduelle et parallèle dans différentes régions d'Afrique, géographiquement diffuse, non-centrée par opposition à la domestication centrée, et ont donc eu des origines multiples. Selon sa théorie, la domestication du riz africain a suivi un "modèle de transition prolongée" par opposition au "modèle de transition rapide" (Fuller 2007; Allaby et al. 2008; Meyer et al. 2016; Purugganan 2019).

O. glaberrima possède une diversité génétique moindre, en comparaison à *O. sativa*, dû notamment à deux goulots d'étranglement (Orjuela et al. 2014; Wang et al. 2014b). Le premier ayant eu lieu lors de la divergence des espèces asiatiques et africaines, et le deuxième lors du processus de domestication. On retrouve cependant des variations génétiques qui traduisent une diversité de morphologies adaptées à des conditions écologiques différentes, avec notamment des variétés flottantes et des variétés pluviales de plaine ou de montagne (Semon et al. 2005). D'une manière générale, *O. glaberrima* présente des grains de petite taille, en forme de poire, avec un son rouge et une enveloppe de graine d'une couleur allant de l'olive au noir, des panicules droites et simplement ramifiées, et des ligules courtes et arrondies, cependant certaines variétés d'*O. glaberrima* peuvent avoir des ligules pointues (Linares 2002). Dans l'ensemble, les rendements d'*O. glaberrima* sont

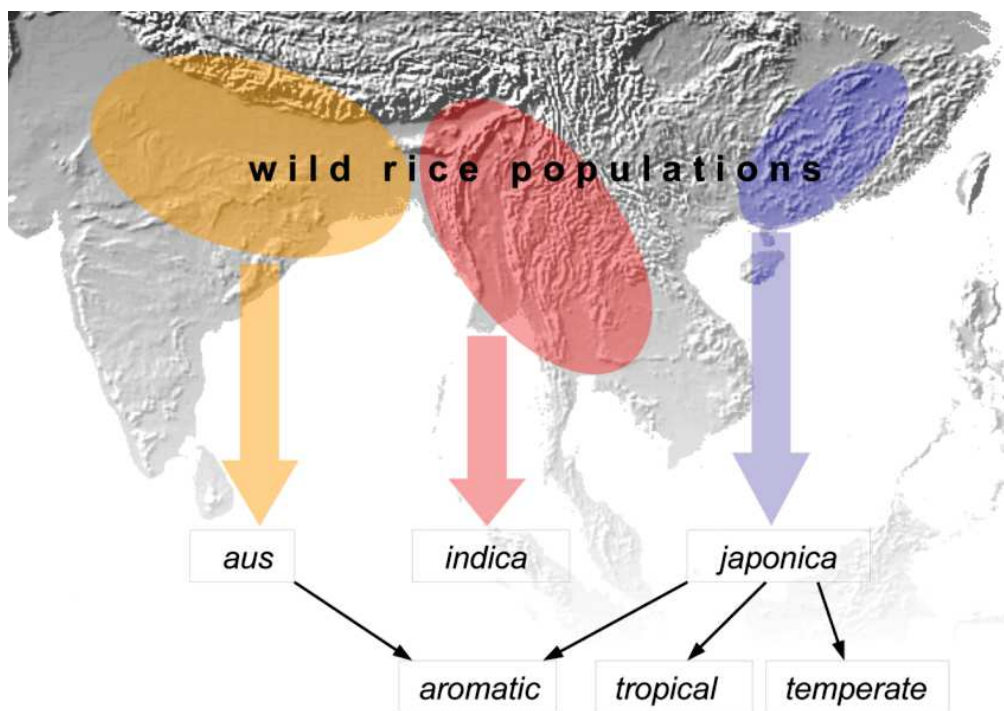


Figure 10. Schéma de l'origine du riz domestiqué d'après (Civan et al. 2015).

Les sous-espèces d'*Oryza sativa indica*, *japonica* et *aus* proviendraient de domestications dans des lieux différents (Sud-Est et Sud de l'Asie). Selon Civan et ses collaborateurs (2015) c'est l'hybridation ultérieure entre les sous-espèces *japonica* et *aus* qui aurait donné le riz *aromatic*, et les deux versions de *japonica* : tempérée et tropicale, seraient apparues plus tardivement.

plus faibles que ceux d'*O. sativa*, toutefois l'espèce *O. glaberrima* se fait remarquer par sa capacité d'adaptation à la sécheresse, à la toxicité en fer et aux sols infertiles, mais aussi par une meilleure résistance aux maladies et aux insectes ravageurs (Linares 2002; Albar et al. 2003). Aujourd'hui la culture d'*O. sativa* a remplacé quasiment la totalité des cultures d'*O. glaberrima* en Afrique, cependant cette dernière prospère dans un contexte plus traditionnel où elle est utilisée dans des offrandes rituelles pour honorer les ancêtres, plutôt que pour la consommation (Van Andel 2010).

- *Oryza sativa*

Le riz *O. sativa* provient de la domestication de l'espèce de riz sauvage *O. rufipogon* qui aurait eu lieu il y a environ 9 000 ans (Vaughan et al. 2008). Cependant, l'histoire de sa domestication est un domaine controversé (Gross and Zhao 2014). Selon Huang et ses collaborateurs (2012) le riz *O. sativa* ssp. *japonica* aurait été domestiqué pour la première fois à partir d'une population spécifique d'*O. rufipogon* autour de la zone centrale de la rivière des Perles dans le sud de la Chine, et le riz *O. sativa* ssp. *indica* aurait ensuite été développé à partir de croisements entre le riz *japonica* et le riz sauvage local lorsque les cultivars initiaux se sont répandus dans le sud-est et le sud de l'Asie. Comme la domestication est supposée s'être produite une fois dans une seule sous-population et s'être propagée aux autres sous-populations par hybridation, cette domestication est définie comme le modèle de domestication unique *de novo* avec introgression (Huang et al. 2012). D'un autre côté Civán et ses collaborateurs (2015) soutiennent que des domestications distinctes auraient donné les types de riz *indica*, *japonica* et *aus*, ces domestications ayant eu lieu dans différentes régions du sud-est et du sud de l'Asie. L'hybridation ultérieure entre le *japonica* et l'*aus* aurait donné le riz *aromatic*, et les versions "tempérée" et "tropicale" du *japonica* auraient évolué ultérieurement (Figure 10, (Civán et al. 2015).

O. sativa compte aujourd'hui cinq sous-populations (*indica*, *aus*, *aromatic*, *japonica tempérée* et *japonica tropicale*) (Garris et al. 2005). Cette espèce se caractérise par une pilosité des glumelles (absente chez *O. glaberrima*), des panicules retombantes avec des ramifications secondaires, et des ligules larges, cependant certaines variétés d'*O. sativa* ont également des grains en forme de poire avec un son rouge (Linares 2002). C'est aux alentours du 16^e siècle que les premières variétés de riz asiatiques ont été introduites sur le continent Africain par les navigateurs portugais (Sweeney and McCouch 2007). Depuis, les cultures de riz asiatiques ne cessent de prendre de l'envergure en Afrique de l'Ouest, et remplacent indéniablement la quasi-totalité des cultures de riz africains.

3. Les ressources génétiques et génomiques disponibles

Le riz est considéré comme une espèce modèle pour les céréales, à la fois car son génome est relativement petit et parce qu'il est étudié depuis très longtemps. La taille de son génome est de 400

à 430 millions de paires de bases (Mbp), bien plus petite que des céréales telles que le blé ou le maïs, mais trois fois celle d'*A. thaliana* (Arumuganathan and Earle 1991). Grâce à la relative conservation de l'agencement et de la composition des gènes entre les espèces, les travaux menés sur le génome modèle d'*O. sativa* bénéficient aux autres céréales cultivées, en particulier le blé et le maïs. De plus, outre le fait que le riz soit un modèle génomique, il possède aussi un intérêt agronomique mondial puisqu'il fait partie de l'alimentation de base de près de la moitié de la population mondiale.

a) Ressources génétiques

On estime qu'il existe plus de 140 000 variétés d'*O. sativa*, y compris des variétés primitives ("landraces") et des variétés améliorées (Jackson 1995), constituant une composante importante du patrimoine génétique du riz.

L'IRRI (International Rice Genebank) abrite le plus grand dépôt de diversité génétique du riz au monde, avec plus de 132 000 accessions de riz sauvages et cultivés provenant du monde entier (<http://irri.org/our-work/research/genetic-diversity/international-rice-genebank>), qui participent à l'amélioration des cultivars de riz.

Une partie des variétés d'*O. glaberrima* et *O. barthii*, provenant d'une collection de plus de 3 000 accessions, a été regroupée à l'IRD de Montpellier afin d'être analysée (Orjuela et al. 2014).

Jung et ses collaborateurs (2008), dans le but de caractériser la grande quantité de gènes de l'espèce *O. sativa* dont les fonctions sont encore inconnues, ont créé environ 500 000 lignées mutantes, le total combiné de cinq populations mutantes, possédant une à dix copies de mutations par lignée. Si les insertions étaient réparties uniformément dans le génome, on pourrait prévoir que cette collection de mutants cible 99 % des loci du riz (Jung et al. 2008).

Par ailleurs, les espèces sauvages de riz contiennent de nombreux traits agronomiques utiles mais une grande majorité de ces traits restent inexploités à ce jour car ils n'ont pas encore été tous identifiés, mais aussi car il est souvent difficile de les transférer dans le riz cultivé (*O. sativa* L.). Dans le but de détecter des gènes ou QTL d'intérêt et de les introduire dans les variétés cultivées, diverses lignées d'introgession et recombinantes ont été générées, représentant un matériel génétique puissant de détection :

- Les **NIL ("Near Isogenic Lines")** sont des lignées quasi-isogéniques qui sont souvent le produit de programmes de sélection végétale dont l'objectif est l'introgession d'un caractère ou d'un trait (gène) souhaitable d'un parent donneur. Les lignées quasi-isogéniques sont générées par un processus de rétro-croisement répété avec sélection du caractère souhaité à

chaque cycle de croisement. Par exemple les lignées de type IRBB sont obtenues à partir de rétro-croisements successifs entre des variétés donneuses portant des gènes de résistance à *X. oryzae* pv. *oryzae* (gènes *Xa*) d'intérêt et la variété récurrente universellement sensible IR24 (sous-espèce *indica*). Les IRBB ne se différencient d'IR24 que par la région qui porte le gène d'intérêt.

➤ Les **RIL ("Recombinant Inbred Lines")** sont des lignées consanguines produites par autofécondation, à partir d'individus F_2 dérivés du croisement entre deux lignées parentales. Le génome de chaque lignée est un réassortiment aléatoire des génomes des deux lignées parentales, en proportions statistiquement égales, fixé à l'état homozygote. Les inconvénients des RIL sont qu'il faut au moins six générations pour obtenir une lignée consanguine et, qu'il est impossible d'estimer les effets de dominance des loci à effet quantitatifs (QTL) cartographiés en raison de l'absence de génotypes hétérozygotes. Cependant, l'avantage des RIL est que, parce qu'elles ne sont composées que d'homozygotes, elles sont stables et peuvent donc être utilisées dans des expériences avec des réplifications dans plusieurs environnements, ce qui permet des estimations plus précises des composantes génétiques et l'identification des interactions entre les QTL et l'environnement. De plus, comme plusieurs cycles de méiose se produisent pendant le développement de ces lignées, il existe des possibilités de recombinaison entre des loci étroitement liés (Silva et al. 2007).

➤ Les **CSSL ("Chromosome Segment Substitution Lines")** sont une série de lignées d'introgession produites par le croisement et le rétro-croisement d'un parent donneur et d'un parent receveur. Chaque CSSL porte un ou plusieurs segments de chromosomes du parent donneur dans le fond génétique du parent récurrent, éliminant ainsi le bruit de fond génétique. L'ensemble des lignées couvre alors toute l'information du génome du parent donneur dans le fond génétique du parent receveur. L'utilisation des CSSL permet la détection de QTL avec des effets mineurs additifs qui sont toujours masqués dans les populations primaires F_2 ou RIL (Ali et al. 2010).

Dans le programme de croisement pour développer des lignées CSSL de riz, le parent récurrent, qui est généralement une espèce cultivée, est utilisé comme femelle, tandis que le parent donneur, généralement une espèce sauvage, est utilisé comme mâle afin d'éviter la stérilité cytoplasmique dans les générations suivantes (Ali et al. 2010). En plus d'être un outil efficace pour l'introgession de gènes d'espèces sauvages vers les espèces cultivées et le transfert ultérieur de gènes vers des cultivars commerciaux, les CSSL ont été utilisés pour

l'introgession de gènes d'une sous-espèce à l'autre, en particulier entre les groupes variétaux *indica* vers *japonica* et inversement.

- Les populations de type **BIL ("Backcross Inbred Lines")**, comme les CSSL, peuvent être utilisées pour introduire des gènes d'intérêt provenant d'espèces sauvages dans le fond génétique de riz cultivés. Les populations de type BIL ne sont pas développées avec le concept de couvrir le génome entier du donneur, contrairement aux populations CSSL qui sont fondamentalement conçues pour récupérer le génome entier du donneur. Les BIL sont caractérisées par une faible proportion de parent donneur dans chaque lignée et elles sont bien adaptées à la cartographie de la variation interspécifique. Comme chaque lignée ne porte qu'une petite fraction du génome de l'espèce sauvage, la plupart des problèmes de fertilité peuvent être éliminés et les traits associés au rendement peuvent être mesurés (Eshed and Zamir 1995). Le développement de BIL, comme celui de CSSL, implique le croisement de l'espèce sauvage contenant les gènes d'intérêt avec un parent cultivé. L'hybride F1 est rétro-croisé avec le parent cultivé et les plantes BC1F1 produites sont rétro-croisées avec le parent cultivé pour générer des plantes BC2F1, etc.
- Les populations de type **MAGIC ("Multi-parent Advanced Generation Inter-Cross")** sont générées en croisant n lignées pendant $n/2$ générations jusqu'à ce que toutes les variétés fondatrices soient combinées avec des proportions égales dans les croisements. Cette ressource puissante capture donc la diversité génétique de plusieurs variétés qui ont été recombinaisonnées sur plusieurs générations pour créer une population avec une grande diversité phénotypique idéale pour la cartographie à haute résolution de QTL d'intérêt. Ce type de population est souvent utilisée pour les études de génomique d'association, aussi appelées GWAS ("Genome-Wide Association Study"), permettant d'étudier un grand ensemble diversifié de génomes (Bandillo et al. 2013; Raghavan et al. 2017). Les populations de type MAGIC ont un double objectif : des populations de cartographie permanente pour la cartographie précise des QTL et une utilisation directe et indirecte dans le développement des variétés. Contrairement à un ensemble de germplasmés naturellement diversifiés, cette population est faite sur mesure pour les sélectionneurs avec une combinaison de traits utiles dérivés de multiples lignées de sélection d'élite. Les populations de type MAGIC offrent également la possibilité d'étudier les interactions entre les introgressions génomiques et la recombinaison chromosomique (Bandillo et al. 2013).

b) Ressources génomiques

- Séquençage de génomes de riz

En 1997, "the International Rice Genome Sequencing Project" (IRGSP), qui regroupe 11 nations, commence le séquençage du génome de la variété de riz *O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare, choisi comme modèle commun pour l'ensemble des pays de l'IRGSP. Ce séquençage est effectué, selon l'approche "clone-by-clone", aussi appelée "mapped clone sequencing strategy". Elle consiste au séquençage de longs fragments d'ADN principalement à partir de banques génomiques de BAC ("Bacterial Artificial Chromosomes") ou PAC ("P1-derivative Artificial Chromosomes"). Chaque séquence est rendue disponible sur des bases de données publiques, même si non annotée, comme "DNA Data Bank of Japan" (DDBJ), GenBank ou encore "the European Molecular Biology Laboratory" (EMBL) (Sasaki and Burr 2000).

En 2002, grâce à une même approche de "whole-genome shotgun sequencing", deux équipes séquencent respectivement le génome d'*O. sativa* L. ssp. *indica* 93-11 (Yu et al. 2002) et d'*O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare (Goff et al. 2002). Ces deux premières publications des séquences génomiques du riz ont ouvert la voie à tous les efforts futurs. Depuis, ces génomes ont été améliorés avec l'arrivée de nouvelles techniques de séquençage, comme par exemple le séquençage par Illumina (Kawahara et al. 2013) et PacBio (Zhang et al. 2018).

Au cours des années 2014 et 2015 les génomes de deux variétés d'*O. glaberrima* ainsi que ceux des espèces sauvages *O. barthii*, *O. nivara*, *O. meridionalis*, *O. punctata*, *O. rufipogon*, *O. glumaepatula* et *O. brachyanta* ont été mis à disposition sur la base de données Ensembl (<https://plants.ensembl.org/>) (Jacquemin et al. 2013; Cunningham et al. 2015; Kersey et al. 2016). Depuis avril 2022 cette plateforme regroupe 122 génomes de plantes.

En 2012, "the International Rice Genomics INitiative" (IRIGIN) coordonné par l'IRD, en collaboration avec le CIRAD, le CIAT (Colombie, centre du CGIAR) et l'AfricaRice (organisme panAfricain du CGIAR), le tout au sein du Mégaprogramme GRiSP (Global Rice Science Partnership, CGIAR) est mis en place. L'IRIGIN est la contribution française au programme de séquençage massif des riz, initié par l'IRRI ("International Rice Research Institut", Philippines, centre du CGIAR) et le BGI ("Beijin Genomic Institut", Chine) qui ont réalisé le séquençage de 3 000 variétés de riz asiatiques. L'IRIGIN est un programme qui vise à fournir un large éventail de ressources génomiques pour les riz africains cultivés et sauvages, ainsi que pour diverses lignées de riz asiatiques présentant un intérêt agronomique ou scientifique (<https://www.france-genomique.org/projet/irigin-international-rice-genome-initiative/>). Le séquençage de nombreux génomes de riz permet l'identification de plusieurs millions de SNP, qui peuvent être visualisés via diverses plateformes.

- Visualisation des SNP chez *O. sativa*

Plusieurs outils de visualisation des SNP dans les génomes du riz ont été mis en place afin de faciliter l'étude de cette céréale; ci-dessous une liste d'exemples des ressources disponibles.

Le projet OryzaSNP (www.OryzaSNP.org) a été lancé dans l'idée de découvrir les variations génétiques au sein de 20 variétés de riz (au départ), appartenant principalement aux sous-espèces *japonica* et *indica*. Ce projet a pour but de déterminer la variation en SNP présente au sein de 100 Mb de génome de riz, représentant environ 80% de portion non répétitives des 390 Mb du génome de référence Nipponbare. OryzaSNP a permis la découverte de 159 478 SNP non redondants répartis au sein des génomes présents dans le jeu de données OryzaSNP (McNally et al. 2009).

La base de données HapRice (<http://qtaro.abr.affrc.go.jp/index.html>) permet de visualiser la fréquence allélique de tous les SNP présents dans 76 accessions de la collection mondiale de riz (3 334 SNP) et dans 177 accessions de riz japonais (3 252 SNP). Au sein de cette base de données des outils web pour trouver des SNP polymorphes entre deux accessions de riz et pour concevoir des amorces afin de développer des marqueurs de séquences polymorphes à n'importe quel SNP, ont été développés (Yonemaru et al. 2014).

RiceVarMap ("Rice Variation Map", <http://ricevarmap.ncpgr.cn>) est une base de données des variations génomiques du riz. La base de données fournit des informations complètes sur 6 551 358 SNP et 1 214 627 insertions/délétions (InDel) identifiés à partir des données de séquençage de 1 479 accessions de riz. La base de données fournit également des détails géographiques et des images de phénotypes pour diverses accessions de riz. De plus, elle fournit des outils pour construire des réseaux d'haplotypes et concevoir des amorces PCR en tenant compte des variations génomiques connues environnantes. Ces données et outils sont très utiles pour explorer les variations génétiques et pour les études d'évolution du riz et d'autres espèces (Zhao et al. 2015).

- Bases de données regroupant l'accès aux ressources génétiques et génomiques du riz

Le projet OMAP (*Oryza* Map Alignment Project) a été mis en place par Wing et ses collaborateurs (2005) dans le but de libérer le potentiel génétique du riz sauvage. Pour cela les BAC/STC de 11 espèces de riz sauvage et du génome de référence *O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare ont été utilisés pour construire et aligner les cartes physiques de ces 12 génomes, afin de comparer leur organisation génomique. Les 11 espèces de riz sauvage comprennent 9 types de génomes différents et incluent 6 génomes diploïdes (AA, BB, CC, EE, FF et GG) et 4 génomes tétraploïdes (BBCC, CCDD, HHKK et HHJJ) avec une large distribution géographique et une adaptation écologique (Wing et al. 2005).

Gramene (<http://www.gramene.org>) est un portail unique permettant de trouver de la documentation, des ensembles de données génétiques et génomiques liés à des cartes, des

marqueurs, des gènes, des génomes et des loci à caractères quantitatifs, sur plusieurs graminées de la famille des Poacées (e.g. le riz, le maïs, le sorgho, le blé ou encore l'orge). Plusieurs outils sur Gramene facilitent le potentiel d'analyse comparative entre les graminées et contribuent à notre compréhension de l'anatomie, du développement, des réponses environnementales et des facteurs influençant la performance agronomique des cultures céréalières (Jaiswal et al. 2006).

OryGenesDB (<http://orygenesdb.cirad.fr/>) est une base de données dédiée à la génétique inverse du riz, sur laquelle des mutants d'insertion des gènes du riz y sont catalogués. Cette base de données contenait déjà 44 166 mutants en 2006 (Droc et al. 2006).

Oryzabase est une base de données contenant des informations sur le développement et l'anatomie du riz, les mutants du riz et les ressources génétiques, notamment pour les variétés sauvages de riz (Kurata and Yamazaki 2006).

Il existe aussi le "Rice Genome Annotation Project" (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) qui permet de visualiser les différents chromosomes des génomes de riz d'*O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare et d'*O. sativa* ssp. *indica* 93-11, ainsi que les gènes qui y sont annotés.

c) Amélioration variétale

Comme dit précédemment, *O. glaberrima* est aujourd'hui généralement cultivée en Afrique de l'Ouest, sur de petites surfaces, en raison de son rendement plus faible par rapport à *O. sativa*. Pourtant, elle est plus adaptée aux conditions de culture rustiques africaines que *O. sativa* (Linares 2002) et présente de multiples résistances et tolérances à différents stress biotiques comme abiotiques (Linares 2002; Albar et al. 2003). Ainsi, malgré son faible niveau supposé de diversité génétique, *O. glaberrima* est un outil très précieux pour l'amélioration de *O. sativa*, par le biais de l'hybridation interspécifique. Cependant, une forte barrière de stérilité, principalement dirigée par le locus S_I (Sano 1990; Garavito et al. 2010), existe entre ces deux espèces divergentes, ce qui complique l'utilisation d'*O. glaberrima* dans la sélection d'*O. sativa*. Néanmoins, il est possible d'obtenir des variétés hybrides fertiles par sauvetage d'embryons ou par fertilisation manuelle et rétro-croisement, comme cela a été fait pour la production des variétés NERICA (NEw RICE for Africa, (H. Gridley 2002). Les variétés NERICA sont devenues le premier succès à grande échelle du croisement des deux espèces cultivées. Il en existe deux types: les NERICA de plateau (upland) et les NERICA de bas-fond (lowland, NERICA-L), adaptés aux environnements pluviaux ou irrigués. Au total, il existe maintenant 82 variétés NERICA, 18 variétés de plateau, 60 variétés de bas-fond pluvial et 4 variétés irriguées. Les variétés NERICA pour les différentes écologies de riz constituent un bien public international important. En général, ces variétés ont une durée de croissance plus courte que les variétés existantes, ce qui permettrait aux cultures de riz d'échapper à la sécheresse qui a un impact négatif sur le rendement. Elles faciliteraient également la pratique de

systèmes de culture diversifiés en rotation avec les cultures de riz, tels que la culture de riz-légumineuse, la culture de riz de couverture et d'autres systèmes similaires, afin de maintenir la fertilité du sol et donc le rendement du riz pluvial (Nguyen VN 2003). Les premières variétés NERICA ont été homologuées en Côte d'Ivoire en 2000. Le développement des NERICA de plateau a valu à l'AfricaRice¹ plusieurs récompenses internationales, dont le Prix mondial de l'alimentation décerné en 2004 à Monty Jones (<https://www.africarice.org/nerica>).

Le germplasma des riz cultivés, comme dit précédemment, peut aussi être élargi par l'hybridation des cultivars avec des espèces sauvages, des variétés primitives ainsi que par des croisements intra-sous-spécifiques afin d'augmenter le potentiel de rendement du riz. Voici quelques exemples de croisements et/ou d'introgessions de gènes ayant permis l'amélioration du riz :

- Xiao et ses collaborateurs (1996) ont signalé que certains rétro-croisements, résultant d'un croisement entre une accession d'*O. rufipogon* de Malaisie (IRGC 105491) et une variété de riz cultivé (V20A), ont donné un rendement supérieur de 18 % au parent récurrent (Xiao et al. 1996).
- Les gènes *Bt*, provenant de la bactérie *Bacillus thuringiensis*, codant pour des toxines, ont été introduits dans le riz pour lutter contre le foreur jaune de la tige ("yellow stem borer"), un insecte très répandu en Asie (Datta et al. 1997). Xu et ses collaborateurs (1996) ont signalé que le riz transgénique portant le gène du niébé inhibiteur de la trypsine (*Cpti*) présentait une résistance accrue au foreur de la tige ("steam borer") et au foreur de la tige rose ("pink stem borer") (Xu et al. 1996).
- Des gènes de résistance à la pyriculariose et à la bactériose du riz ont été transférés d'une accession de riz sauvage d'*O. minuta* (Acc 101141) pour améliorer le germplasma du riz cultivé *O. sativa* (IR31917-45-3-2) (Brar and Khush 1997). Les gènes *ots A* et *ots B* de la biosynthèse du tréhalose, provenant d'*Escherichia coli*, ont été introduits dans le riz et les lignées de riz transgéniques avaient une tolérance accrue aux stress abiotiques tels que la sécheresse et la salinité (Garg et al. 2002).
- En 2003, Potrykus a rapporté le développement réussi d'un riz génétiquement modifié qui contient plus de provitamine A (communément appelé "riz doré"). En utilisant des techniques de transformation médiées par *Agrobacterium* il a transféré des gènes de jonquille (*Narcissus pseudonarcissus*) et de la bactérie *Erwinia uredovora* au riz (Potrykus

¹ AfricaRice, anciennement connu sous le nom d'Association pour le développement de la riziculture en Afrique de l'Ouest, est une association intergouvernementale panafricaine et une organisation de recherche du CGIAR, dont le siège est actuellement à Abidjan, en Côte d'Ivoire.

2003). De même, le gène de la ferritine du soja a été transféré dans le riz pour augmenter sa teneur en fer (Goto et al. 1999).

- Les plantes C4 telles que le maïs et le sorgho sont plus productives que le riz et le blé C3 car les plantes C4 sont 30 à 35% plus efficaces dans la photosynthèse. Depuis 2001, Matsuoka et ses collaborateurs essaient de modifier la photosynthèse du riz de la voie C3 à la voie C4 en introduisant des gènes clonés du maïs dans le riz. En cas de succès, le potentiel de rendement du riz pourrait augmenter de 30 à 35 % (Matsuoka et al. 2001).

4. Les menaces des cultures de riz

La croissance continue de la population, donc de la consommation, impose d'énormes demandes au niveau des ressources naturelles. Il devient nécessaire d'augmenter la production agricole pour répondre aux besoins alimentaires futurs (Godfray et al. 2010; Foley et al. 2011; Palmgren et al. 2015). Une solution pour augmenter la production alimentaire, sans augmenter la surface cultivée, et sans dégrader les terres, l'eau et la biodiversité, serait l'introgession dans les cultures de gènes de résistance connus pour lutter contre les stress biotiques et abiotiques auxquelles elles sont exposées.

a) Stress abiotiques

L'eau, de par sa trop grande présence ou son absence, constitue le principal facteur de menace des production. Bien que le riz soit considéré comme une culture tolérante aux inondations, seuls quelques cultivars présentent une tolérance à une submersion prolongée (Niroula et al. 2012), la plupart mourant dans les 14 jours suivant une submersion complète. D'un autre côté, la sécheresse cause aussi d'énormes dommages sur les plantes (Krannich et al. 2015), en particulier chez le riz, qui y est sensible car il est acclimaté à des champs soit pluviaux, soit entièrement irrigués. L'effet de la sécheresse peut varier en fonction des différents génotypes, des stades de développement, de la température et de la durée du stress (Wang et al. 2011). La **salinité** est aussi l'un des stress abiotiques les plus dévastateurs pour le riz, et les sols affectés par le sel représentent actuellement environ 20 % de la surface totale de plantation de riz paddy (Zhou et al. 2016). La salinité du sol a des effets négatifs sur la germination, la résistance aux maladies et le rendement des plantes (Munns and Tester 2008). Le **stress dû au froid** est l'un des principaux facteurs environnementaux limitant la croissance, la productivité et la distribution géographique des cultures, principalement dans les zones tempérées et de haute altitude, en raison de l'origine tropicale du riz cultivé (Cruz et al. 2013; Zhang et al. 2014). Les basses températures peuvent affecter la croissance et le développement des plants de riz à tous les stades de développement, de la germination au remplissage des grains. Les basses températures qui surviennent aux stades critiques de la reproduction peuvent nuire à la qualité des grains (maturation incomplète des grains) ou entraîner des baisses de rendement (Jena et

al. 2012; Cruz et al. 2013; Zhang et al. 2014). Les cultures de riz peuvent aussi être soumises à d'autres stress, tels que les fortes températures ou encore le manque de nutriments, que je ne décrirai pas ici.

b) Stress biotiques

Les plantes sont confrontées à de nombreux types de stress biotiques causés par différents organismes vivants comme les champignons, les bactéries, les nématodes, les insectes et les virus. Ces agents de stress biotique provoquent divers types de maladies, d'infections et de dommages aux plantes cultivées et affectent finalement la productivité des cultures.

Chez le riz la **pyriculariose**, causée par l'agent pathogène *Magnaporthe oryzae* appartenant à la division des Ascomycètes, est une des maladies du riz causant les plus grandes pertes de rendement. Ce champignon hémibiotrophe s'attaque aux parties aériennes de la plante et cause des symptômes foliaires en forme de losanges, grisâtre au centre et brun sur les bords. Ces lésions affectent la capacité photosynthétique de la plante et leur évolution entraîne le dessèchement et la mort des feuilles infectées (Liu et al. 2014).

Les **nématodes** se nourrissent des plantes et provoquent principalement des maladies transmises par le sol qui entraînent une carence en nutriments, un retard de croissance et un flétrissement (Lambert and Bekal 2002; Bernard et al. 2017; Osman et al. 2020). *Meloidogyne incognita* est un **nématode à galle** de la famille des Heteroderidae qui parasite les racines de riz et provoque de fortes pertes de rendement notamment au Brésil, au Bénin et au Vietnam. Au niveau du site d'infection, ce nématode induit la formation de cellules géantes au niveau desquelles il se nourrit et se reproduit (Bellafiore and Briggs 2010).

Concernant les **acariens** et les **insectes**, ces derniers altèrent les plantes en s'en nourrissant (en les perçant et en les suçant) ou en y pondant des œufs. Les insectes peuvent également être porteurs d'autres virus et bactéries. Par exemple la **cicadelle verte orientale du riz**, nommée *Nephotettix* spp., transmet la **maladie virale du tungro**. Le virus conduit à la décoloration des extrémités des feuilles, un tallage réduit, des plantes à la croissance ralentie et à la vigueur restreinte, et dans le pire des cas le flétrissement des plantes (Azzam and Chancellor 2002).

Par ailleurs, les **virus** et les **bactéries** sont également capables de dommages locaux et systémiques entraînant dans certains cas une chlorose et un rabougrissement pour l'un, et des nécroses foliaires pour l'autre (Niño-Liu et al. 2006; Pallas and García 2011). Le RYMV ("Rice Yellow Mottle Virus") est un virus à ARN appartenant au genre des sobémovirus qui cause la maladie de la **panachure jaune du riz** (Regenmortel et al. 2000). Le virus se transmet par voie mécanique et par le coléoptère *Sessilia pussila* (Hébrard et al. 1999). Les feuilles infectées présentent au départ des panachures jaunes qui à des stades plus avancés prennent une couleur orangée et entraînent un

dessèchement des tissus photosynthétique et la mort de la feuille. L'infection des parties végétatives entraîne un retard de croissance et affecte la formation des panicules (Thiemele et al. 2008). Parmi les maladies bactériennes du riz, l'espèce *Xanthomonas oryzae* ssp. fait partie des menaces majeures causant de grandes pertes de rendement. Au sein de cette espèce se retrouvent deux pathovars, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) et *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), causant respectivement la **bactériose à strie foliaire (BLS)** et la **bactériose vasculaire (BLB)** du riz. Cette dernière fait partie du top 10 des maladies bactériennes affectant les plantes (Mansfield et al. 2012), et sera détaillée dans le paragraphe VI. 1. b).

IV. Le genre *Xanthomonas*

1. Généralités

La première observation d'une bactérie du genre *Xanthomonas* fut rapportée en 1881 par Wakker, dans le cas de la maladie jaune des jacinthes ("yellows disease of hyacinths") (Starr 1981). De façon générale, le genre *Xanthomonas* comprend des bactéries à gram négatif, à la pigmentation jaune, qui interagissent avec les plantes. On dénombre environ 400 espèces de plantes pouvant être infectées par les bactéries du genre *Xanthomonas*, incluant une grande diversité de monocotylédones et de dicotylédones, dont de nombreuses cultures d'intérêt agronomique telles que le riz, le blé, la banane, la tomate, les agrumes, le coton ou encore le manioc (Jacques et al. 2016). Le genre *Xanthomonas* comprend environ 35 espèces et 80 pathovars. Au sein d'une espèce, les pathovars se distinguent par une gamme d'hôtes caractéristiques et/ou une spécificité de colonisation tissulaire (vasculaire ou parenchymatique). Par exemple, l'espèce *X. oryzae* infectant le riz comprend les deux pathovars *X. oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) et *X. oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*), qui envahissent le système vasculaire et les espaces intercellulaires du parenchyme respectivement (Niño-Liu et al. 2006).

2. Génomique et *Xanthomonas*

Les deux premiers génomes de *Xanthomonas* spp. ont été séquencés au début des années 2000 (da Silva et al. 2002). A l'heure actuelle, plus de 1 400 génomes de *Xanthomonas*, représentant toutes les espèces de *Xanthomonas* nommées, sont disponibles publiquement dans la base de données du "National Center for Biotechnology Information" (NCBI). Cette richesse de données génomiques a révolutionné notre compréhension de la taxonomie bactérienne et de l'évolution des pathogènes, ainsi que des facteurs contribuant à la virulence et à l'adaptation de l'hôte. La diversité des *Xanthomonas* peut être catégorisée à plusieurs niveaux, comprenant la **diversité génétique** au sein des populations et des espèces, et la **diversité fonctionnelle ou environnementale**, qui décrit leurs rôles dans les microbiomes des plantes.

- Diversité des populations et des espèces

Afin d'évaluer la diversité des populations, différentes méthodes ont été mises en place, allant de l'analyse de profil de RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism"), au séquençage du génome entier ("Whole Genome Sequencing", WGS), en passant par des approches de type MLVA ("Multiple Loci VNTR Analysis") et MLST ("MultiLocus Sequencing Typing"). L'analyse RFLP est une technique qui exploite les variations dans les séquences d'ADN homologues affectant les sites de reconnaissance des enzymes de restriction. L'analyse VNTR ("Variable Number Tandem Repeat") à loci multiples, ou MLVA, quant à elle, est une méthode d'analyse génétique qui exploite comme source de polymorphisme la variation du nombre de motifs de répétitions en tandem (micro ou minisatellites). Enfin, le typage par séquençage MLST, est une technique de référence qui permet de discriminer différentes souches en se basant sur le séquençage de "gènes de ménage" codant pour des protéines essentielles de la bactérie. Ces séquences ont la particularité de présenter un polymorphisme stable dans le temps et suffisant pour distinguer des souches entre elles. Ces diverses techniques permettent de garder un œil sur l'évolution des génomes à l'échelle d'une espèce, d'un pathovar, ou même encore d'une population entière.

Le contournement de gènes de résistance par une population bactérienne est un cas d'étude intéressant qui met en avant l'intérêt d'utiliser ces différents outils d'analyses pour traquer l'évolution des populations, et anticiper de futur contournement (Quibod et al. 2020). D'autre part, certains composants du génome tels que les séquences d'insertions, aussi appelées IS ("insertion sequences"), sont acteurs de la diversification des populations et des espèces. Les IS joueraient un rôle important dans l'instabilité du génome et la perte de fonction des gènes, comme le montre l'inactivité du gène *gumM*, qui intervient dans la production de xanthane, provoquée par une séquence d'insertion et qui a aboli la production de ce polysaccharide extracellulaire chez *X. oryzae* (Rajeshwari and Sonti 2000). En 2005, un total de 386 IS a été trouvé dans un seul génome de *X. oryzae*, indiquant une grande plasticité du génome de chaque souche (Ochiai et al. 2005). La comparaison du génome de la souche de *Xoo* PXO99^A avec ceux des souches de *Xoo* MAFF311018 (MAFF) et KACC10331 (KACC), ces deux dernières étant très similaires l'une à l'autre, a fourni des preuves directes que le génome de *Xoo* est très plastique et évolue rapidement (Salzberg et al. 2008). Le génome de PXO99^A code 19 effecteurs TAL et présente au moins 10 réarrangements chromosomiques majeurs par rapport aux souches KACC et MAFF, résultant en 29 blocs synténiques distincts. La plupart de ces réarrangements semblent être médiés par un ensemble d'éléments transposables.

La diversité intraspécifique et la spécialisation de l'hôte sont apparentes chez *X. citri* pv. *citri* (*Xci*), qui présente trois pathotypes : A, A* et A^w. Ces trois pathotypes ont une gamme d'hôtes variable : le

pathotype A a une large gamme d'hôtes, tandis que le pathotype A* n'infecte que *Citrus aurantifolia*, *C. latifolia* et *C. macrophylla*, et le pathotype A^w affecte *C. aurantifolia* et *C. macrophylla* (Escalon et al. 2013). Gordon et ses collègues (2015) ont réalisé une analyse de génomique comparative sur 43 souches de *Xci* qui n'a révélé qu'une variation extrêmement faible du contenu génétique; la plupart du contenu génétique variant était lié aux îlots génétiques et aux régions de recombinaison. Ces résultats indiquent le rôle joué par le transfert horizontal de gènes et la recombinaison pour l'évolution du contenu génétique de ces pathotypes en termes de gain et de perte de contenu génétique et de mutations (Gordon et al. 2015). Le gène *avrGf1* et son homologue *avrGf2* agissent comme un facteur de restriction de la gamme d'hôtes dans le pathotype A^w mais la délétion du gène *avrGf1* ne donne pas une gamme d'hôtes de type A à ce pathotype. Ceci indique que la présence ou l'absence d'autres facteurs est nécessaire pour expliquer la gamme d'hôtes de ces pathotypes.

- Génomique environnementale

L'analyse de génomique comparative des souches de *Xanthomonas* pathogènes et non pathogènes, qui coexistent dans la même plante hôte, peut donner plus d'informations sur les adaptations génomiques d'une souche non pathogène à un environnement particulier. Par exemple, une analyse du pangénome de souches de *Xanthomonas*, isolées de grains de riz sains, a permis d'identifier un certain nombre de gènes uniques qui sont partagés par *X. maliensis*, précédemment signalé comme ayant un mode de vie non pathogène, et les *Xanthomonas* pathogènes du riz (*X. oryzae*, (Triplett et al. 2015). Même si *X. maliensis* n'a pas de système de sécrétion de type 3 (SST3) et ses effecteurs associés qui sont retrouvés chez les *Xanthomonas* pathogènes, il porte des gènes codant d'autres systèmes de sécrétion, tels que le SST1, SST4 et SST6, indiquant certaines caractéristiques similaires aux *Xanthomonas* pathogènes. Par conséquent, *X. maliensis* est phylogénétiquement plus proche des isolats pathogènes que des isolats non pathogènes, tel que certaines souches de *X. arboricola* ou *X. cannabis* ne portant que 4 gènes régulateurs associés aux SST3, et les orthologues de 6 ET3, contre 24 orthologues trouvés dans les souches pathogènes (Jacobs et al. 2015; Garita-Cambronero et al. 2017). Ces observations suggèrent que *X. maliensis* est un intermédiaire possible dans l'évolution des souches pathogènes à partir des souches non pathogènes par l'acquisition de gènes qui sont habituellement présents dans les isolats pathogènes (Triplett et al. 2015).

3. Les déterminants du pouvoir pathogène

a) Les structures de surface des bactéries

Parmi les déterminants du pouvoir pathogène se retrouvent en première ligne, les structures de surface des bactéries telles que les exopolysaccharides (EPS), les lipopolysaccharides (LPS) et les adhésines (Figure 11).

Un des **exopolysaccharides caractéristiques** des *Xanthomonas* est le **xanthane**, qui donne cet aspect mucoïde aux colonies bactériennes. La production de xanthane est dirigée par plusieurs loci génétiques, y compris le groupe de gènes *gum*, qui consiste en 12 gènes (*gumB* à *gumM*) et est hautement conservé parmi les bactéries du genre *Xanthomonas* (Katzen et al. 1998; Vojnov et al. 1998). En raison de sa consistance hautement hydratée et anionique, le xanthane protège les bactéries des stress environnementaux (e.g. la déshydratation, les composés toxiques). Il a été démontré que les gènes *gum* de plusieurs *Xanthomonas* contribuent à la survie épiphytique et/ou à la croissance bactérienne *in planta* et à la formation de symptômes (Chou et al. 1997; Katzen et al. 1998; Dharmapuri and Sonti 1999; Kemp et al. 2004; Dunger et al. 2007; Rigano et al. 2007; Kim et al. 2009). Il est aussi intéressant de noter que la contribution du xanthane à la virulence peut dépendre de la plante hôte et des conditions environnementales (Dunger et al. 2007; Rigano et al. 2007). Des preuves expérimentales démontrent que le xanthane supprime également les réponses de défense basale des plantes telles que le dépôt de callose dans la paroi cellulaire de la plante (Yun et al. 2006; Aslam et al. 2008) et qu'il serait impliqué dans la formation de biofilms (Dow et al. 2003; Torres et al. 2007; Rigano et al. 2007). Ce biofilm servirait de protection contre les antibiotiques et les réponses de défense de l'hôte et pourrait contribuer à la survie épiphytique des bactéries avant que ces dernières colonisent l'espace intercellulaire des plantes (Stoodley et al. 2002).

Un autre facteur de virulence associé à la survie de *Xanthomonas* et d'autres bactéries phytopathogènes sont les **lipopolysaccharides (LPS)**, qui sont des composants majeurs de la membrane externe bactérienne et protègent la cellule des environnements hostiles. Chez *X. campestris* pv. *campestris* (*Xcc*), la synthèse du LPS est dirigée par le groupe de gènes *wxc*, qui comprend 15 gènes (Vorhölter et al. 2001). Une analyse comparative des séquences a révélé que les groupes de gènes LPS de différentes espèces de *Xanthomonas* varient en nombre et en identité de gènes et ont probablement été soumis à une forte sélection de diversification (génération de multiples allèles différents dans différentes espèces, pathovars et aussi différentes souches) (Lu et al. 2008). Des variations dans la composition des LPS pourraient permettre aux bactéries d'échapper à la reconnaissance par le système immunitaire de la plante et affecter probablement aussi la résistance bactérienne à l'adsorption et/ou à l'infection par les phages (Ojanen et al. 1993; Hung et al. 2002).

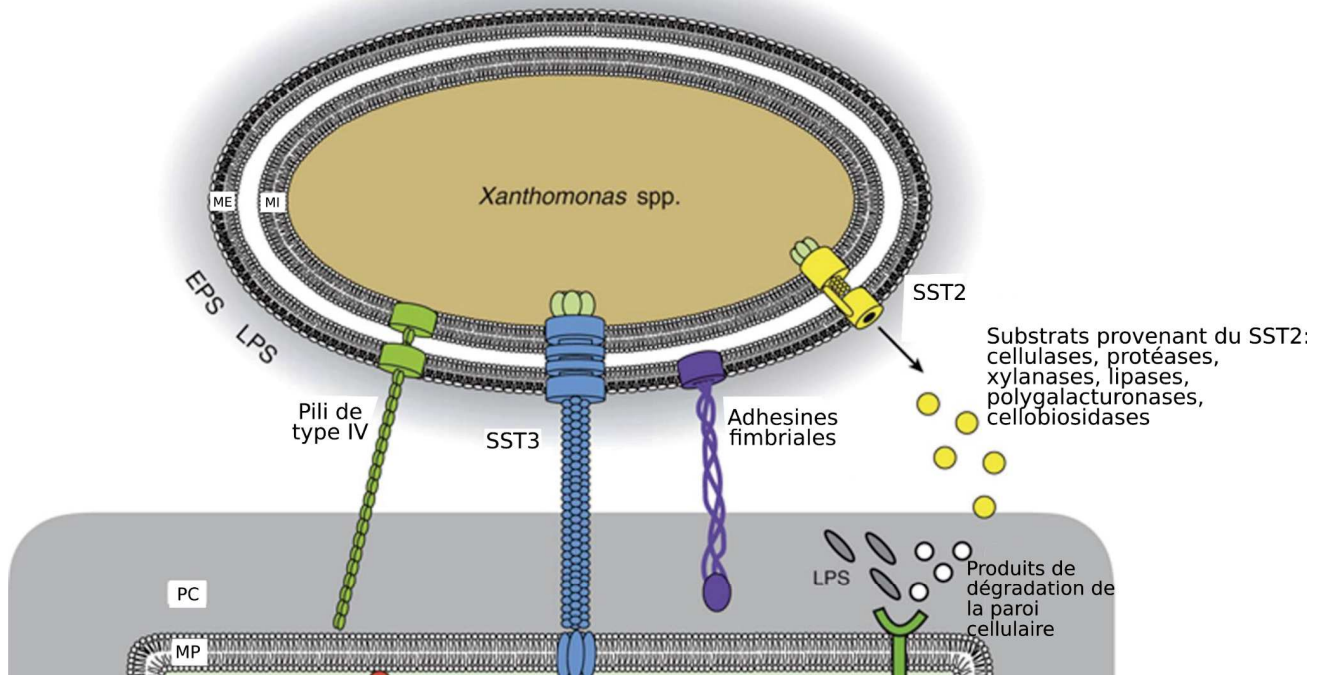


Figure 11. Les structures de surface des bactéries participant à leur pouvoir pathogène.

Les *Xanthomonas* spp. dépendent des SST2 et SST3, des adhésines, des EPS et des lipopolysaccharides (LPS) pour interagir avec leurs plantes hôtes. Les LPS peuvent être libérés de la surface bactérienne et déclencher des réponses de défense de la plante. Les LPS et autres PAMPs sont détectés par des récepteurs spécifiques des plantes qui activent les réponses de défense des plantes (PTI). L'immunité déclenchée par les PAMPs peut également être déclenchée par les produits de dégradation de la paroi cellulaire des plantes qui résultent de l'action des enzymes de dégradation sécrétées par le SST2. Le SST3, qui transloque les protéines effectrices dans la cellule hôte, est essentiel pour la pathogénicité bactérienne. MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; PC, paroi cellulaire ; MP, membrane plasmique. D'après (Buttner and Bonas 2009).

L'adhésion des bactéries aux surfaces biotiques est la clé de l'invasion du tissu hôte. La fixation des bactéries dépend **d'adhésines** spécifiques ancrées dans la membrane externe des bactéries. L'analyse comparative des séquences génomiques a révélé que les bactéries phytopathogènes possèdent un certain nombre d'adhésines qui servent probablement de médiateur à l'attachement bactérien à de multiples récepteurs de la cellule hôte et pourraient contribuer à différentes étapes du processus d'infection (Das et al. 2008). A ce jour, il a été démontré que les adhésines de *Xoo*, *X. axonopodis* pv. *citri* (*Xac*) et *X. fuscans* ssp. *fuscans* (*Xff*) sont impliquées dans la virulence bactérienne et la fixation aux feuilles et/ou aux graines (Ray et al. 2002; Das et al. 2008; Gottig et al. 2009; Darsonval et al. 2009). Les analyses mutationnelles des gènes des adhésines de *Xff* ont révélé que ces dernières contribuent individuellement et de manière complémentaire aux différentes étapes du processus d'infection (Darsonval et al. 2009). En accord avec cela, il a été découvert que XadA et XadB, les adhésines de *Xoo*, sont nécessaires pour l'attachement bactérien à la surface de la feuille, tandis que l'homologue de l'adhésine autotransporteur YapH, de *Yersinia* spp., contribue à la colonisation bactérienne des vaisseaux du xylème (Das et al. 2008).

b) Les systèmes de sécrétion

i. Le système de sécrétion de type 3

Chez la plupart des bactéries à gram négatif pathogènes des plantes et des animaux le système de sécrétion de type 3 (SST3) est un acteur majeur de la pathogénicité. Il est décrit comme une "seringue moléculaire" permettant l'injection d'effecteurs de type 3 (ET3) dans le cytoplasme de la cellule hôte (Figure 12, (Deng et al. 2017)). Chez les bactéries phytopathogènes le SST3 est constitué de deux ensembles de protéines codées par les gènes *hrp* ("Hypersensitive response and pathogenicity") et *hrc* ("HR and conserved"). Les protéines Hrc dirigent la sécrétion des substrats SST3 à travers l'enveloppe bactérienne, tandis qu'un sous-ensemble de protéines Hrp sont elles-mêmes sécrétées par le SST3 et dirigent la translocation des effecteurs à travers les barrières des cellules hôtes (Alfano and Collmer 2004). Le groupe de gènes chromosomiques *hrp*, contient plus de 20 gènes organisés en plusieurs unités transcriptionnelles (Büttner and Bonas 2002). Ces gènes ont été découverts pour la première fois chez *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* et se sont révélés essentiels pour la pathogénicité bactérienne et l'induction de la HR dans les plantes hôtes et non hôtes, respectivement (Lindgren et al. 1986). Identifiés dans la plupart des bactéries à gram-négatif, les gènes *hrp* sont absents chez *Agrobacterium tumefaciens* et *Xylella fastidiosa*, cette dernière étant étroitement liée à *Xanthomonas* spp. (Bonas 1994; Simpson et al. 2000; Goodner et al. 2001; Wood et al. 2001).

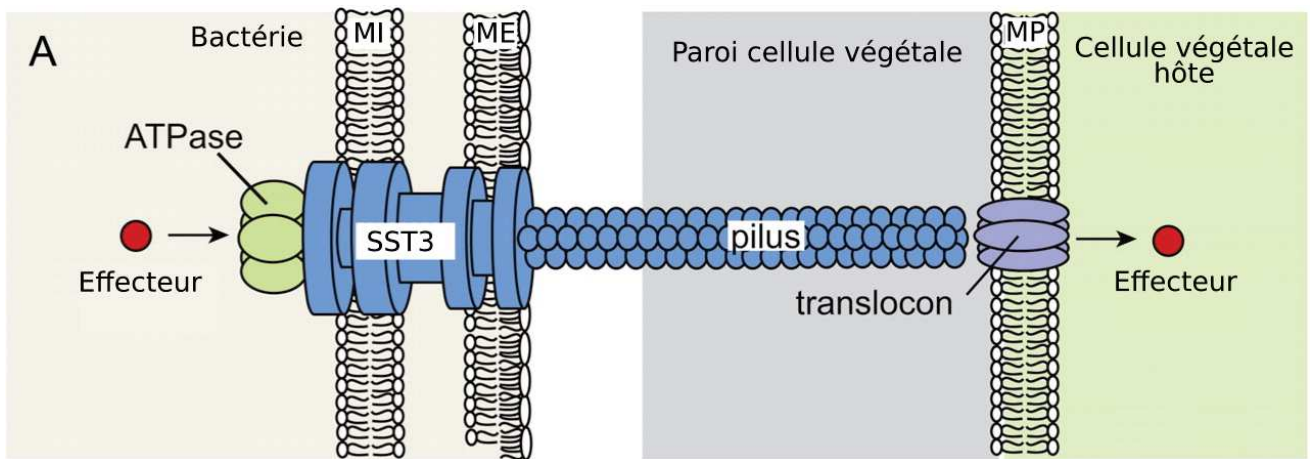


Figure 12. Représentation schématique d'un système de sécrétion de type III (SST3) présent chez les bactéries phytopathogènes (Buttner and He 2009).

Représentation schématique du SST3 des bactéries phytopathogènes. L'appareil de sécrétion traverse les deux membranes bactériennes et est associé à une ATPase cytoplasmique. Le T3SS des bactéries pathogènes des plantes est connecté à un pilus extracellulaire qui traverse vraisemblablement la paroi cellulaire de la plante. Le système T3SS des bactéries pathogènes des animaux est associé à une courte aiguille extracellulaire, qui sert de canal de transport pour les protéines sécrétées. L'aiguille est reliée par le complexe de pointe au translocon, qui forme un canal protéique dans la membrane plasmique de l'hôte et permet le transport des protéines effectrices dans le cytosol de la cellule hôte. La preuve de la présence d'un complexe de pointe chez les bactéries phytopathogènes fait encore défaut. MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; MP, membrane plasmique.

ii. Les autres systèmes de sécrétion

Bien que le SST3 soit considéré comme le principal système de sécrétion responsable de la virulence, la contribution d'autres systèmes de sécrétion à la pathogénie ou à l'aptitude globale du pathogène, comprenant les systèmes de sécrétion de type 2 (SST2) et de type 6 (SST6), a été démontrée chez *X. euvesicatoria*, *X. citri* pv. *citri* et *X. oryzae* pv. *oryzae* (Baptista et al. 2010; Szczesny et al. 2010; Bayer-Santos et al. 2018, 2019). Ces deux systèmes ont été reportés pour être impliqués dans la sécrétion de plusieurs enzymes dégradant la paroi cellulaire (Figure 13).

Le cluster SST2_{xps} est conservé dans le genre *Xanthomonas* (Timilsina et al. 2020), et certaines bactéries en possèdent même plusieurs (e.g. *X. euvesicatoria*). Le SST2 permet la sécrétion vers la matrice extracellulaire de toxines et d'un grand nombre et d'une grande variété d'enzymes telles que des protéases, des lipases et des enzymes de dégradation de la paroi cellulaire. Dans tous les cas examinés, les mutations des gènes codant pour des SST2 diminuent la virulence chez un ou plusieurs hôtes, ce qui montre clairement l'importance du SST2 dans la pathogénèse végétale (Cianciotto and White 2017).

Le SST6 est une machinerie contractile composée de 13 protéines structurelles centrales. Ce système est apparenté, du point de vue évolutif, à la queue des bactériophages (Basler and Mekalanos 2012) et s'assemble en trois complexes majeurs : le complexe transmembranaire, la plaque de base et la queue. Les SST6 sont connus pour médier la compétition entre les bactéries rivales dans les environnements polymicrobiens en transloquant des toxines antibactériennes (e.g. des enzymes dégradant la paroi cellulaire, des nucléases et des enzymes ciblant les membranes) dans les cellules bactériennes concurrentes. Les SST6 peuvent délivrer des effecteurs protéiques autant dans des cellules procaryotes que dans des cellules eucaryotes (Cianfanelli et al. 2016; Hachani et al. 2016). Dans ce même contexte de compétition entre bactéries, les SST6 sécrètent aussi des effecteurs qui facilitent l'acquisition de nutriments (Wang et al. 2015c; Si et al. 2017b, a). Par ailleurs, un grand nombre de bactéries déploient leur système de sécrétion de type 4 (SST4) pour transférer de l'ADN, des protéines ou d'autres macromolécules vers d'autres bactéries ou cellules eucaryotes (Figure 13, (Waksman 2019; Li et al. 2019). Les SST4 sont composés principalement de deux sous-familles, les systèmes de conjugaison, pour échanger de l'ADN, et de translocation d'effecteurs (Cascales and Christie 2003). Ces deux catégories de systèmes nécessitent généralement un contact direct de cellule à cellule; cependant, quelques SST4 fonctionnent indépendamment des interactions avec les cellules cibles pour importer de l'ADN exogène ou exporter de l'ADN ou des protéines vers le milieu (Alvarez-Martinez and Christie 2009; Stingl et al. 2010; Koch et al. 2020).

Les systèmes de sécrétion de type 1 (SST1) ou transporteurs ABC (ATP-binding cassette) sont des complexes hétérotrimériques composés d'un exportateur ABC IM, d'une protéine de fusion

membranaire (MFP) et d'une protéine de membrane externe (OMP) formant un pore. Les T1SS permettent la sécrétion d'un large éventail de substrats (protéiques et non protéiques, tels que des toxines, des protéases et des lipases du cytoplasme vers l'espace extracellulaire en une seule étape, sans intermédiaire périsplasmique stable (Figure 13, (Gerlach and Hensel 2007).

Le système de sécrétion de type 5 (SST5) consiste en une seule chaîne polypeptidique avec un domaine translocateur à barillet β dans la membrane externe, et une région extracellulaire passagère ou effectrice (Figure 13, (Drobnak et al. 2015). Les SST5 n'ont pas de source d'énergie évidente pour le transport, car il n'y a pas d'énergie chimique telle que l'ATP disponible dans le périplasma, et aucun gradient stable de protons ou d'autres ions n'existe à travers la membrane externe. Cela a conduit à l'appellation "autotransporteur" qui suggère un système de sécrétion complètement autosuffisant (Klauser et al. 1993). Les substrats transportés par les autotransporteurs ont des fonctions très diverses, allant des adhésines (fixation aux surfaces, formation de biofilm) ou des enzymes aux protéines toxiques.

4. Les effecteurs TAL et non-TAL

Parmi les ET3 de *Xanthomonas*, certains sont capable de moduler la physiologie de l'hôte pour obtenir des nutriments, faciliter l'infection et/ou échapper aux réponses immunitaires de l'hôte (Kay and Bonas 2009). On les classe en deux groupes principaux en fonction de leur structure moléculaire, de leur fonction et de leurs interacteurs. Le premier groupe forme un ensemble hétérogène de protéines dites "***Xanthomonas* outer proteins**" (Xops), ce sont des effecteurs dotés d'un large éventail d'activités enzymatiques, dont les cibles et les effets physiologiques associés se situent principalement dans le cytoplasme de l'hôte et dont le mécanisme d'action repose sur des interactions protéine-protéine. Le second regroupe uniquement les protéines de la famille des "**Transcription Activator Like Effectors**" (TALE), qui sont des protéines modulaires partageant une architecture très spécifique combinée à des motifs eucaryotes qui leur permettent d'agir comme de véritables facteurs de transcription dans le noyau de l'hôte.

La plupart des Xops sont impliqués dans l'altération des voies de défenses déclenchée par les PAMP-DAMP (PTI/DTI) ou par les effecteurs (ETI). Comme exemple de Xops qui suppriment les défenses de la plante, il y a XopP de *Xoo*, qui a récemment été identifié pour bloquer l'immunité déclenchée par les peptidoglycanes et la chitine, chez le riz, en inhibant l'ubiquitine ligase U-box *OsPUB44*, un régulateur positif de l'immunité basale (Ishikawa et al. 2014). Un autre exemple apparaît chez la souche *Xoo* PXO99^A qui possède 18 effecteurs bactériens non-TAL. Parmi eux, XopZ agit comme un facteur de virulence et supprime les mécanismes de défense basale des plantes. XopZ permet de réduire le dépôt de callose, et serait induit de façon HrpG-dépendante (Song and Yang 2010). XopD est un autre exemple de Xop utilisant une voie de type ubiquitine et

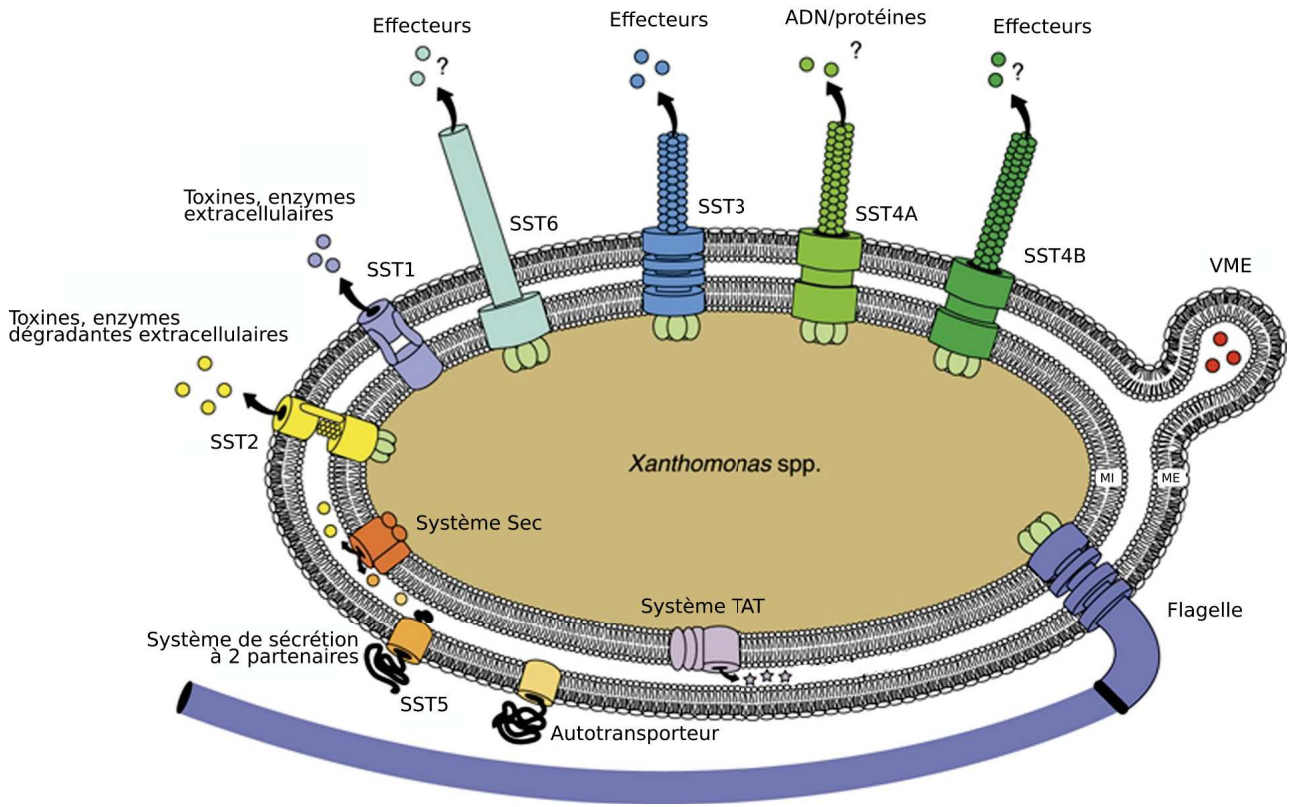


Figure 13. Représentation schématique des systèmes de sécrétions présents chez *Xanthomonas* spp. (Buttner and Bonas 2009).

Six types de systèmes de sécrétions sont représentés ici. Les systèmes SST2 et SST5 dépendent du système Sec ou TAT pour le transport des protéines à travers la membrane interne. Les systèmes SST3, SST4 et SST6 sont associés à des structures “pilus” extracellulaires et transloquent vraisemblablement les protéines dans la cellule hôte. Jusqu'à présent, la translocation des protéines a été prouvée expérimentalement pour les SST3. Dans quelques cas seulement, la sécrétion des protéines dépend de la formation de vésicules de la membrane externe (VME). MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; TAT, twin-arginine translocation.



Figure 14. Structure type d'un effecteur TAL de *Xanthomonas*.

Les TALE possèdent un signal de translocation, qui permet le transport du TALE à l'intérieur de la cellule hôte via le SST3. Une région centrale où des répétitions en tandem se succèdent, conférant au TALE cette spécificité de fixation au promoteur du gène cible. Les TALE possèdent aussi plusieurs motifs NLS (“Nuclear Localisation Signal”), et un domaine d'activation (AD) de la transcription, en C-terminal. Les TALE sont très conservés, mais le nombre de répétitions, ainsi que l'ordre de ces dernières les différencient et définissent leur activité. D'après (Boch & Bonas 2010).

agissant comme une protéase SUMO pour déstabiliser sa protéine cible et ainsi améliorer la virulence de *X. euvesicatoria* pendant l'infection des plants de tomate (Üstün and Börnke 2014). XopY de la souche *Xoo* T7174 interagit avec deux kinases cytoplasmiques semblables à des récepteurs RLCK, OsRLCK55 et OsRLCK185, et supprime la phosphorylation d'OsRLCK185 pour interférer avec la signalisation d'une protéine MAPK (Yamaguchi et al. 2013). Il a également été démontré que XopN, un effecteur important de la souche de *Xoo* KXO85, cible *OsVOZ2* et *OsXNP*, codant un facteur de transcription de type "Vascular Plant One-Zinc Finger 2" et une thiamine synthase putative, respectivement. XopN, induit de façon HrpX-dépendante, permettrait l'infection et l'accroissement de la virulence chez KXO85 via l'interaction avec *OsVOZ2* dans le cytoplasme et le noyau (Cheong et al. 2013). A contrario, les TALE agissent comme des facteurs de transcription qui remodelent le métabolisme cellulaire de l'hôte par l'activation de gènes de sensibilité (S) afin de créer de meilleures niches pour les bactéries (Timilsina et al. 2020) **(Plus de détails sur les TALE seront donnés dans la section suivante V.)**.

V. L'interaction TALE-hôte

Le gène *avrBs3* a été le premier membre isolé de la famille des TALE. Il a été identifié génétiquement à l'Université de Floride, à Gainesville, par Ulla Bonas et ses collaborateurs. C'est l'inoculation des souches 71-21 et 82-8 de *X. euvesicatoria* conduisant à une HR chez le cultivar de poivron résistant ECW-30R, portant le gène *R Bs3*, qui suggéra la présence d'un gène d'avirulence (*avr*) correspondant, appelé *avrBs3*, dans les deux souches (Bonas et al. 1989). Par la suite, la complémentation de la souche virulente *Xcv* 85-10 avec *avrBs3* entraîna l'induction d'une HR dans les feuilles des plantes de poivron ECW-30R, ce qui permit de confirmer son rôle d'effecteur d'avirulence (Bonas et al. 1989). Peu après la découverte d'*avrBs3*, trois homologues de la famille des TALE, *avrXa5*, *avrXa7* et *avrXa10*, ont été clonés à partir de la souche de *Xoo* PXO99^A en utilisant *avrBs3* comme sonde (Hopkins et al. 1992).

1. Structure des TALE

Après *AvrBs3* un grand nombre d'autres TALE ont été décrits chez de nombreuses espèces de *Xanthomonas* montrant que la structure de ces protéines est très conservée et se caractérise par (Figure 14) :

- un **signal de sécrétion de type III**, en N-terminal, permettant la translocation du TALE dans le cytoplasme de la cellule hôte (Szurek et al. 2002),
- un **domaine central** où des répétitions en tandem se succèdent (de 1,5 à plus de 30) (Bonas et al. 1989). Chaque répétition est constituée de 33 à 34 acides aminés, quasiment identiques, à l'exception de ceux en position 12 et 13 qui sont hypervariables et appelés

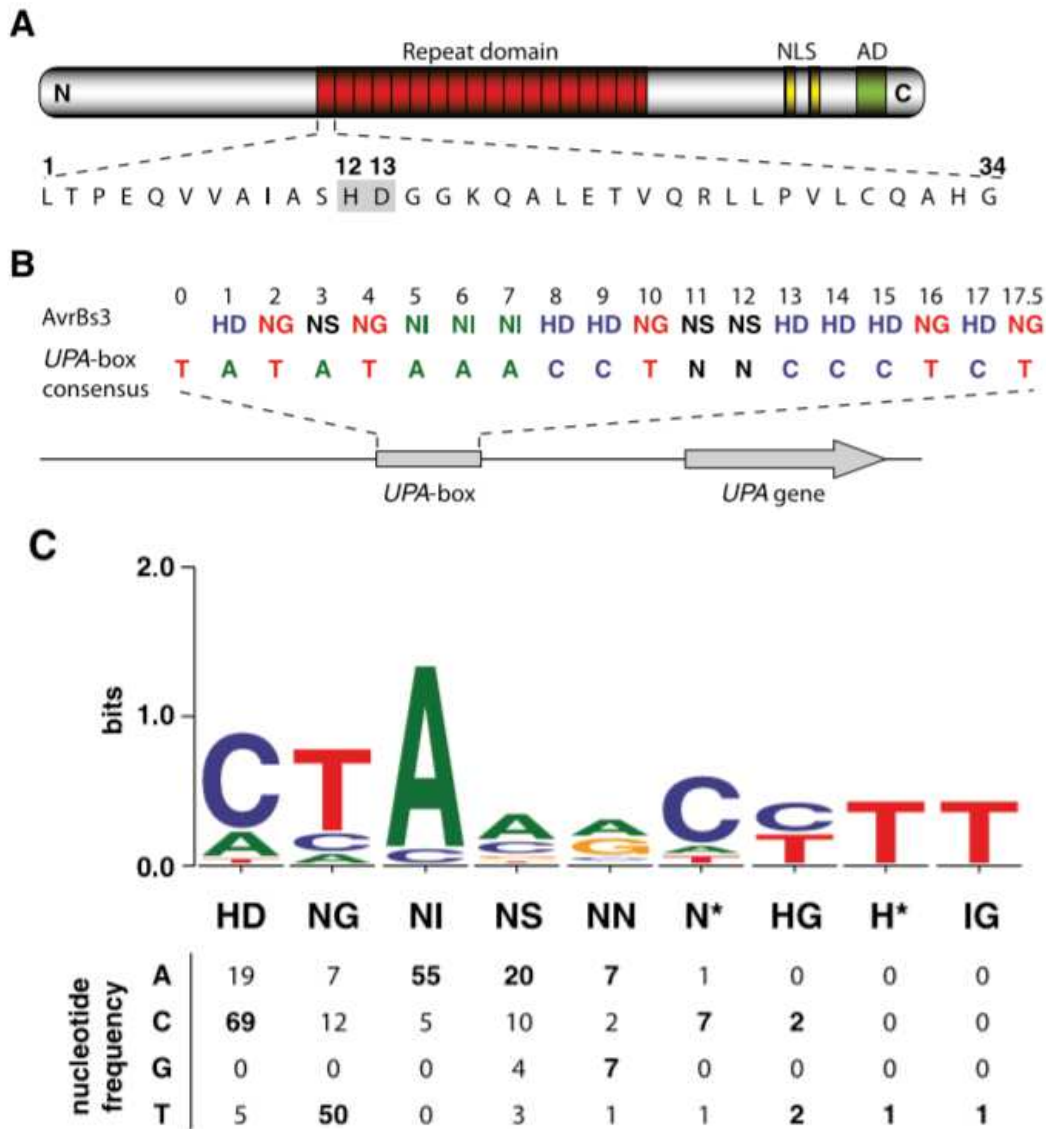


Figure 15. Modèle de la spécificité de l'interaction de l'ADN-cible et des TALE.

(A) Les effecteurs TAL contiennent au niveau de la région centrale des répétitions en tandem se composant de 33/34 acides aminés quasi-identiques, à l'exception de deux résidus hypervariables : les RVD ("Repeat Variable Diresidue"). Les acides aminés hypervariables 12 et 13 sont ombrés en gris. (B) Les acides aminés hypervariables aux positions 12 et 13 des 17,5 répétitions du TALE AvrBs3 de *X. euvesicatoria* sont alignés sur le consensus de la « UPA box ». (C) Les répétitions des effecteurs TAL et des séquences cibles prédites dans les promoteurs de gènes induits ont été alignées manuellement. Les nucléotides dans le brin d'ADN supérieur qui correspondent aux acides aminés hypervariables dans chaque répétition ont été comptés sur la base des combinaisons suivantes de huit TALE et gènes cibles identifiés expérimentalement : AvrBs3/Bs3, UPA10, UPA12, UPA14, UPA19, UPA20, UPA21, UPA23, UPA25, AvrBs3rep16/Bs3-E, AvrBs3rep109/Bs3, AvrHahl/Bs3, AvrXa27/Xa27, PthXol/Xa13, PthXo6/OsTFXI et PthXo7/OsTFIIAgl. Un astérisque indique que l'acide aminé 13 est absent dans ce type de répétition. Les fréquences nucléotidiques les plus élevées sont en gras. Les fréquences nucléotidiques sont affichées dans un logo (<http://weblogo.threeplusone.com>). D'après (Boch et al. 2009).

Culture	Nombre de gènes <i>SWEET</i>	Références
<i>Arabidopsis thaliana</i>	17	(Chen et al. 2010)
<i>Amborella trichopoda</i>	8	(Eom et al. 2015)
<i>Oryza sativa</i>	22	(Streubel et al. 2013)
<i>Sorghum bicolor</i>	23	(Mizuno et al. 2016)
<i>Glycine max</i>	53	(Eom et al. 2015)
<i>Solanum tuberosum</i>	35	(Manck-Gotzenberger et al. 2016)
<i>Solanum lycopersicum</i>	29	(Feng et al 2015)
<i>Malus domestica</i>	33	(Wei et al. 2014)
<i>Vitis vinifera</i>	17	(Chong et al. 2014)

Tableau 2. Nombre de gènes *SWEET* au sein de certaines espèces du règne des *Plantae*.

Tableau adapté de (Mondal et al. 2021).

RVD pour "Repeat Variable Di-residues" (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Le résidu en position 13 plus particulièrement est celui qui confère au TALE sa spécificité de fixation au promoteur du gène cible en déterminant l'interaction avec les nucléotides; le résidu 12 quant à lui permettrait de stabiliser cette interaction (Deng et al. 2012; Mak et al. 2012),

- **plusieurs motifs NLS**, pour "Nuclear Localisation Signal", généralement deux ou trois, en C-terminal, leur permettant de voyager jusqu'au noyau de la cellule hôte grâce à leur liaison avec des importines α (Szurek et al. 2002; Hui et al. 2019b),

- un **domaine d'activation (AD)** de la transcription en C-terminal permettant l'induction des gènes ciblés via le recrutement de la machinerie de transcription de l'hôte (Marois et al. 2002).

2. Mécanisme de reconnaissance TALE-ADN

Le nombre de répétitions au niveau de la région centrale ainsi que la composition et l'enchaînement en RVD définissent la spécificité de reconnaissance de la séquence cible chez l'hôte. Les TALE se fixent à une séquence d'ADN appelée EBE pour "Effector Binding Element", située dans le promoteur des gènes cibles. En se basant sur le fait que AvrBs3 se lie directement à la "UPA-box" (élément promoteur) du gène *Bs3* et que la taille de cette "box" correspond en tout point au nombre de répétitions du domaine central de ce TALE, la possibilité qu'une répétition se lie physiquement à une paire de base d'ADN fut alors envisagée. En 2009 deux équipes découvrent le secret de l'interaction TALE-ADN, l'une par une approche génétique, l'autre par une approche computationnelle (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Le modèle une fois expliqué paraît simple : une répétition reconnaît une paire de bases, de telle sorte qu'une série de répétitions en tandem reconnaît une séquence d'ADN comprenant autant de nucléotides qu'il y a de répétitions. Le nombre de répétitions qui varient d'un TALE à l'autre va donc définir la longueur de l'EBE ciblée (Figure 15). Il a d'abord été montré que les RVD définissaient la spécificité de liaison, par exemple NN reconnaît un cycle purique, NG ou HG reconnaissent une thymine, et HD reconnaît une cytosine. Parmi les RVD plus répandues on note HD, NG, HG, NN, NS, NI et N* (l'étoile signifiant une répétition de 33 aa du fait de l'absence du résidu 13). Selon Boch et ses collaborateurs (2009) six répétitions au minimum seraient nécessaires à l'induction d'une cible. En 2012, Mak et ses collaborateurs révèlent la structure en trois dimensions des TALE et comment ces derniers se fixent à l'ADN (Mak et al. 2012) (**voir aussi section V.6. pour les applications biotechnologiques des TALE**).

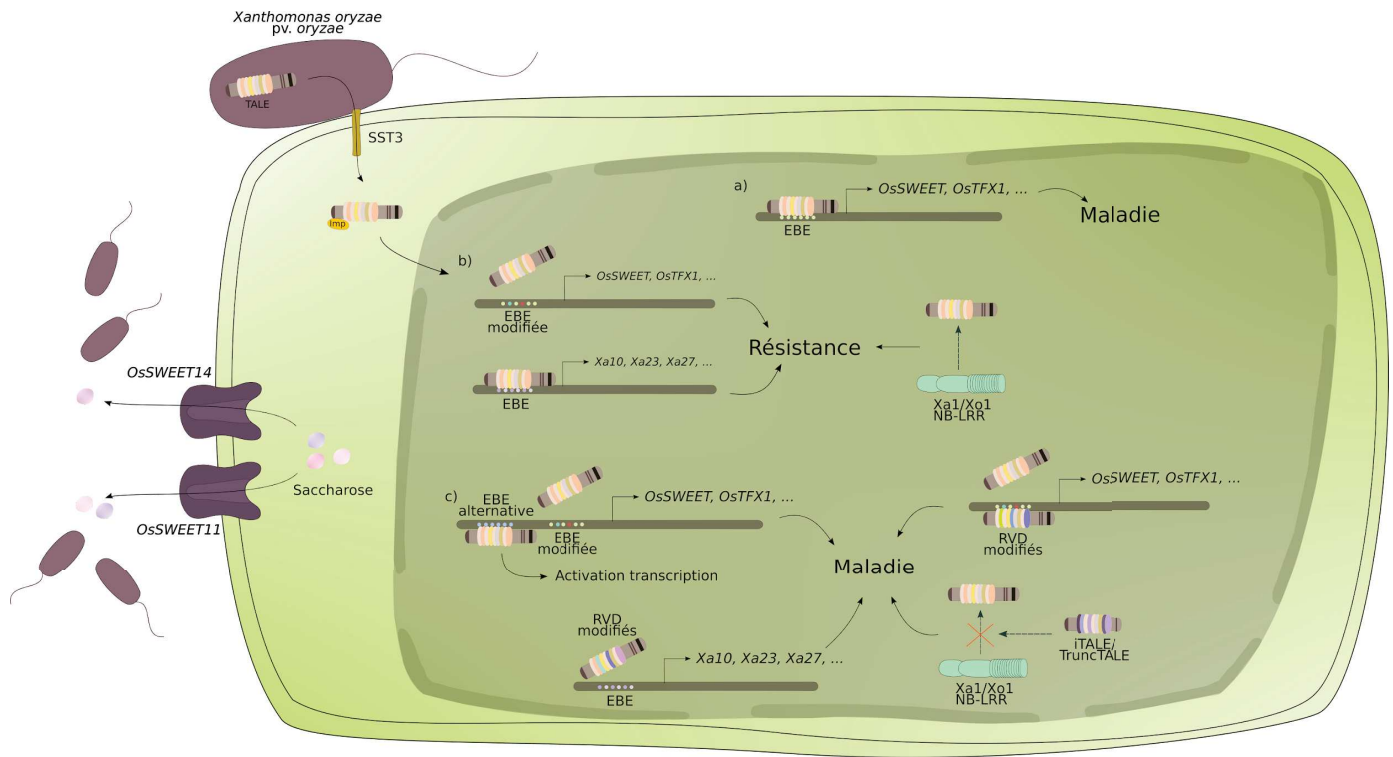


Figure 16. Effecteurs TAL de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* en interaction avec la cellule végétale.

a) Dans un contexte d'interaction compatible avec l'hôte, certains TALE de *Xoo* se fixent au niveau de séquences appelées EBE, pour "Effector Binding Element", situées dans le promoteur des gènes de sensibilité (S). Cette fixation, permet de recruter la machinerie cellulaire de l'hôte et d'induire la transcription de gène S, favorisant ainsi la croissance bactérienne et le développement de la maladie.

b) Au fil du temps, la plante a développé des mécanismes lui permettant de contrer l'agent pathogène, soit i) en modifiant l'EBE située dans les promoteurs des gènes S, empêchant ainsi les TALE de virulence de s'y fixer et d'induire la maladie; soit ii) en créant des EBE positionnées en amont gènes de résistance, que l'on nomme gènes exécuteurs (E), piégeant ainsi les TALE qui induisent par conséquent les gènes de résistance ciblés; ou bien iii) via la reconnaissance de ces effecteurs par le biais de protéines de type NB-LRR, comme Xa1 ou encore Xo1, menant au déclenchement des voies de défense de la plante.

c) Toutefois, dans cette course aux armements la bactérie a elle aussi trouvé d'autres moyens pour contourner les systèmes de défense de la plante. Là où la plante a modifié une EBE, la bactérie va faire en sorte de trouver une EBE alternative dans le promoteur du gène S pour pouvoir de nouveau l'induire. Une autre astuce utilisée par la bactérie est de modifier la séquence en RVD de ses TALE pour pouvoir se fixer sur l'EBE modifiée. Par ailleurs, cette technique de modification de séquence RVD, permet aussi à la bactérie de contourner la résistance médiée par l'induction de gènes E. Pour finir, afin de contrer les mécanismes de résistance NB-LRR dépendants, la bactérie a développé des TALE tronqués, ou interférant, nommés TruncTALE ou iTALE. Les mécanismes régissant ce contournement de la résistance ne sont pas encore bien compris, cependant il semblerait que la présence de ces TALE interférant, chez les certaines souches de *Xoo* Asiatiques, permettrait aux TALE "classiques" de ne pas déclenchaient la résistance, dans des variétés au fond génétique comportant *Xa1/Xo1*.

3. La sensibilité à travers les TALE

Les TALomes, répertoire de gènes *tal*, des différentes espèces de *Xanthomonas* varie en nombre et en composition en fonction des souches, mais aussi des pathovars. Les TALE jouent un rôle majeur dans l'interaction avec l'hôte en induisant l'expression de gènes dit de sensibilité (S) dont l'induction est essentielle à la multiplication du pathogène et/ou au développement de symptômes. Ces gènes S codent majoritairement des transporteurs (de sucres, de sulfate...), ou des facteurs de transcription (Figure 16.a). Parmi eux, les transporteurs de sucres particulièrement, sont les cibles communes de plusieurs TALE et ce dans divers pathosystèmes, représentant des cas d'évolution convergente. C'est pourquoi de nombreuses études ont été menées afin de les caractériser, dans des conditions d'interactions plante-pathogène.

a) Les transporteurs membranaires

Les gènes *SWEET* se retrouvent en très grand nombre chez les plantes, contrairement à une seule copie chez les mammifères. Ces gènes codent pour des transporteurs membranaires de sucres qui sont impliquées de manière significative dans différents événements biologiques des plantes (e.g. la sénescence, le développement du pollen, les interactions plante-pathogène). Le nombre de gènes de la famille des *SWEET* varie considérablement au sein du règne des *Plantae* (Tableau 2). Il peut aller de 8 gènes *SWEET* chez *Amborella trichopoda*, une angiosperme précoce, jusqu'à 53 chez *Glycine max* de la famille des *Fabaceae* au sein du phylum Angiospermes (Eom et al. 2015). Des études phylogénétiques détaillées ont permis de les classer en quatre clades, en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre (Eom et al. 2015; Chen et al. 2015; Li et al. 2018). C'est dans le cadre de l'interaction *Xoo*-riz que le rôle déterminant de certains gènes *SWEET* dans le développement de la maladie a été mis en évidence pour la première fois (Chen et al. 2010). Il existe 22 paralogues des gènes *SWEET* chez le riz et il a été démontré que tous les membres du clade III pouvaient agir comme des gènes de sensibilité (Streubel et al. 2013). Cependant seul trois d'entre eux ont été démontrés comme naturellement induits par différentes souches de *Xoo*. Il s'agit de *OsSWEET11* (alias *Xa13*) qui est induit transcriptionnellement par le TALE PthXo1 (Römer et al. 2010), le gène *OsSWEET13* (alias *Xa25*) induit par les TALE PthXo2A, PthXo2B et PthXo2C (Zhou et al. 2015; Zaka et al. 2018), et le gène *OsSWEET14* (alias *Xa41*) induit par les TALE AvrXa7, PthXo3, TalC ou TalF (alias Tal5) (Figure 17, (Streubel et al. 2013; Tran et al. 2018). Dans ce dernier cas, tous les TALE mentionnés, à l'exception de TalC, utilisent des EBE qui se chevauchent (Figure 18). Plusieurs hypothèses ont été émises quant à la fonction que pourrait jouer la surexpression des *SWEETs* dans le développement des bactérioses. L'export de sucres de la cellule vers l'apoplaste pourrait servir de source de carbone pour la bactérie. Une autre possibilité serait que ce déséquilibre en sucre favorise une accumulation d'eau, qui faciliterait

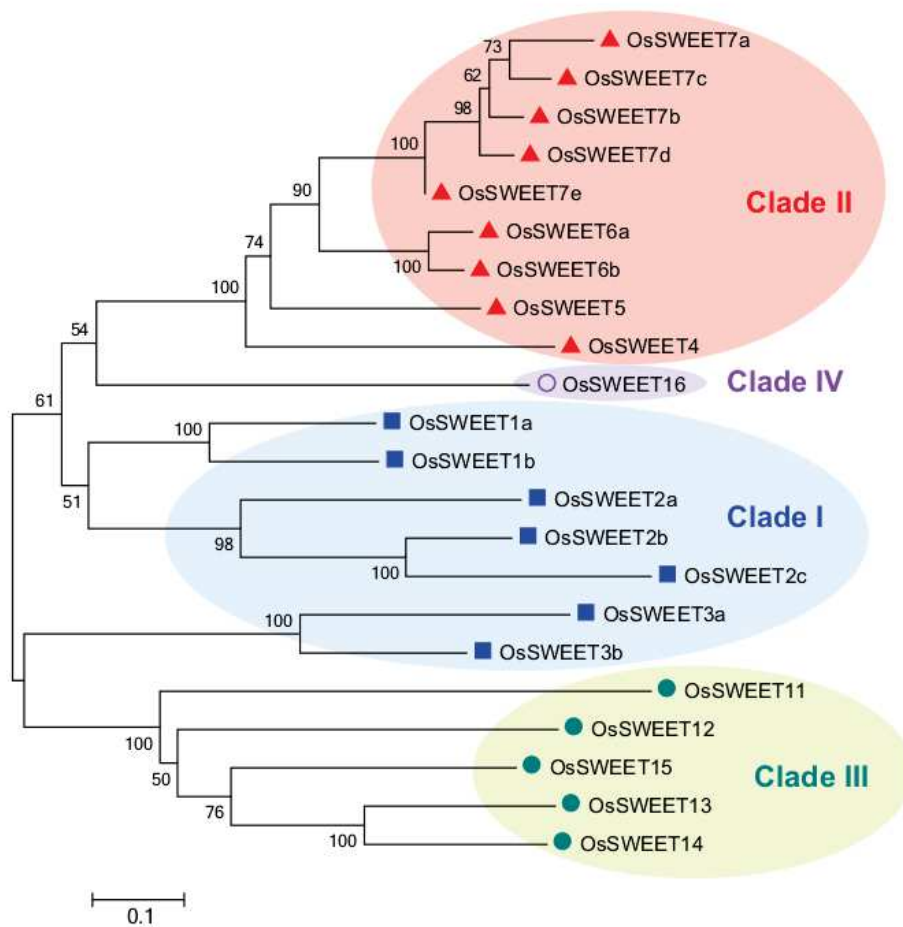


Figure 17. Gènes *OsSWEET* du riz répartis en cinq clades en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre.

Arbre phylogénétique des protéines *OsSWEET*. Les séquences en acide aminé ont été obtenues à partir d'UniProt et alignées à l'aide de MUSCLE avec les paramètres par défaut. Les alignements ont été analysés par la méthode "neighbor-joining" avec MEGA5.10. Les nombres aux intersections représentent la valeur de pourcentage de bootstrap basé sur 1000 répliqués. Les protéines du clade I sont précédées d'un carré bleu, du clade II d'un carré rouge, du clade III d'un rond vert et du clade IV d'un cercle violet. Tous les membres du Clade III agissent comme des gènes *S*, mais uniquement trois (*OsSWEET1*, *OsSWEET13* et *OsSWEET14*) sont induits naturellement par des TALE de *Xoo*. D'après (Streubel et al. 2013).

hypothétiquement le mouvement de l'agent pathogène et l'entrée d'une plus grande quantité de bactéries dans le tissu (Chen 2014; Schwartz et al. 2017; Aung et al. 2018; El Kasmi et al. 2018). De façon intéressante, la convergence évolutive pour l'induction des gènes *SWEET* est aussi retrouvée entre pathosystèmes puisque des gènes homologues sont aussi induits par des TALE de *Xanthomonas* chez d'autres hôtes (Figure 18). Chez le manioc, l'induction du gène *MeSWEET10a* par l'effecteur TAL20_{Xam668} entraîne l'exportation de glucose et de saccharose vers l'apoplaste, le développement de lésion aqueuse et une augmentation de la croissance bactérienne apoplastique (Cohn et al. 2014). Chez les agrumes, les TALEs PthA4, PthA^w et PthA* induisent le gène *CsSWEET1*, qui appartient au clade I, mais cette activation se semble pas favoriser le développement de la maladie, ce qui laisse penser que ce transporteur ne joue pas de rôle dans la pathogénie (Hu et al. 2014). Chez le coton, il a été démontré que le gène *GhSWEET10* est activé par le TALE de virulence majeur AvrB6 présent dans la souche *Xcm_{H1005}*, et que son activation est associée non seulement à l'exportation de saccharose et à la formation de lésions aqueuses, à la dispersion des bactéries à la surface de la feuille, mais ne permet pas d'accroître la quantité de bactéries dans le mésophylle (Yang et al. 1994; Cox et al. 2017).

A ce jour, chez *Xoc* seul un TALE de virulence majeur a été identifié. Il s'agit de Tal2g, identifié par mutagenèse de chacun des TALE de la souche de *Xoc* BLS256. Tal2g induit le gène de sensibilité *OsSULTR3;6*, codant un transporteur de sulfate, nécessaire au développement complet des symptômes de la bactériose à stries foliaires chez le riz. *Xoo* et *Xoc* se distinguant par leur spécificité tissulaire d'infection, il est intéressant de noter que *Xoc* induit un autre type de transporteur. La perturbation de l'interaction entre Tal2g et son EBE dans le promoteur de *OsSULTR3;6* entraîne des lésions aqueuses plus petites et une exsudation des bactéries à la surface des lésions moindre. Bien que les implications physiologiques exactes de la régulation de ce gène dans la pathogénie ne soient pas encore bien comprises, on suppose qu'il modifie le statut redox ou l'équilibre osmotique de la cellule pour interférer avec la signalisation de défense et favoriser le développement des symptômes (Cernadas et al. 2014).

b) Les facteurs de transcription

Une deuxième catégorie plus hétérogène de gènes *S* ciblés par les TALE sont les facteurs de transcription. La surexpression de ces gènes entraîne la dérégulation d'une ou plusieurs de leurs cibles secondaires, ce qui par conséquent permet le développement de la maladie. Certaines de ces cibles primaires et secondaires ont été caractérisées. Par exemple, chez le poivron, le gène *upa20*, qui code pour un facteur de transcription de la famille des bHLH ("basic helix-loop-helix"), est le premier facteur de transcription ciblé par un TALE à avoir été caractérisé. Dans un contexte de maladie, ce gène est induit par AvrBs3 de *X. euvesicatoria* et trans-active le gène *upa7*, codant pour

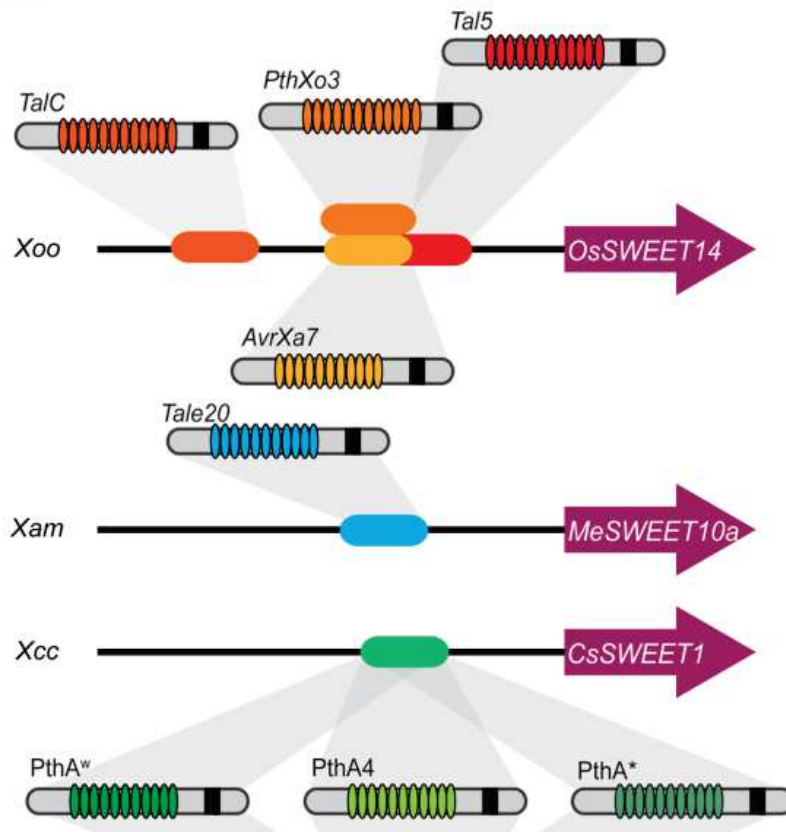


Figure 18. Convergence fonctionnelle des effecteurs bactériens TAL dans différents pathosystèmes et leurs cibles végétales.

Plusieurs cibles de sensibilité de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* appartiennent au clade III de la famille *SWEET*. Quatre TALE provenant de diverses souches de *Xoo* appartenant à des lignées différentes et d'origines géographiques distinctes ciblent *OsSWEET14*. TalC et Tal5 des deux souches Africaines de *Xoo* BAI3 (Burkina Faso) et MAI1 (Mali) se lient à deux sites de liaison (EBE) distincts. De plus, le promoteur d'*OsSWEET14* est ciblé par deux souches Philippines de *Xoo*, PXO86 et PXO61 par l'intermédiaire des TALE AvrXa7 et PthXo3. Les EBEs correspondants se chevauchent partiellement avec l'EBE de Tal5. Les réseaux de di-résidus variables répétés (RVD) et le nombre de répétitions (non représenté dans la figure) pour ces trois TALE sont significativement différents, mettant en évidence une convergence évolutive. La série PthA de *X. citri* ssp. *citri*. PthA4, PthA^w, et PthA^{*} induisent *CsSWEET1* appartenant au clade I de la famille *SWEET* chez les agrumes. Cependant, un rôle dans le développement de la maladie n'a pas été encore démontré. Une troisième espèce, *X. axonopodis* pv. *manihotis*, cible via TAL20 un membre de la famille *SWEET*, *MeSWEET10a*, qui appartient au Clade III, chez le manioc, et agit comme un gène de sensibilité. D'après (Hutin et al. 2015a).

une α -expansine. La surexpression d'*upa7* entraîne un élargissement des cellules du mésophylle des feuilles du piment ce qui permet le développement des symptômes foliaires et améliore potentiellement la survie épiphyte du pathogène (Wichmann and Bergelson 2004; Kay et al. 2007). Chez les agrumes, PthA4 et plusieurs de ces homologues ciblent le gène de sensibilité *CsLOB1*, un facteur de transcription appartenant à la famille des "Lateral Organ Boundaries" (LOB) (Hu et al. 2014). Dans des conditions non-pathogènes, les membres de la famille LOB régulent la croissance et le développement des plantes (Majer and Hochholdinger 2011). Dans des conditions pathogènes, la surexpression de *CsLOB1* entraîne une hypertrophie et une hyperplasie, ensemble de symptômes typiques de la maladie du chancre bactérien des agrumes (Hu et al. 2014).

Chez le riz, le gène *OsTFX1* code pour un facteur de transcription possédant un domaine bZIP ("basic leucine zipper"). Dans des conditions non-pathogènes cette catégorie de facteur de transcription peut être impliqué, entre autres, dans le développement des graines, la tolérance au sel, à la sécheresse et aux basses températures, mais aussi dans la fertilité du riz (Romagosa et al. 2001; Zou et al. 2008; Liu et al. 2012b). Les TALE PthXo6 et TalB, provenant respectivement de souches de *Xoo* Asiatiques et Africaines, se fixent au promoteur de ce facteur de transcription entraînant son induction et soutenant ainsi la virulence de l'agent pathogène (Sugio et al. 2007; Tran et al. 2018). L'expression constitutive de *OsTFX1* suffit à rendre la plante complètement sensible, même en l'absence de PthXo6, confirmant que *OsTFX1* agit comme un gène *S* (Sugio et al. 2007).

Par ailleurs, TalB régule aussi l'expression du gène *OsERF#123*, codant une protéine qui contient un domaine AP2, dont la surexpression confère une sensibilité à *Xoo* chez le riz (Tran et al. 2018). Ces facteurs de transcription de la famille AP2/ERF sont impliqués dans la réponse à plusieurs stress et certains sont capables de répondre à la signalisation de l'ABA et de l'ET, participant ainsi à l'activation de gènes de réponse aux stress (Xie et al. 2019). Il a été montré que les membres de la famille des facteurs de transcription AP2/ERF se fixent sur des séquences spécifiques appelées boîte GCC et jouent des rôles importants dans la défense contre les stress biotiques et abiotiques. Chez les plantes la surexpression de certains gènes AP2/ERF permet d'augmenter leur résistance aux bactéries, aux champignons et aux virus (Park et al. 2001; Gutterson and Reuber 2004; Zuo et al. 2007; Zhang et al. 2009; Jisha et al. 2015). Toutefois, lors de l'infection par des souches de *Xoo* Africaines, *OsERF#123* pourrait agir comme un "hub" pour moduler négativement les défenses contre l'agent pathogène (Tran et al. 2018). De plus, chez la souche de *Xoc* BLS256, Tal3c régulerait l'expression d'*ERF#123*, sans pour autant affecter l'état de virulence de la souche (Wang et al. 2017).

4. L'immunité et les TALE

a) La résistance par perte de sensibilité : contournement de l'ETS

Une des stratégies employées par les plantes pour contrer l'action des TALE est la génération de mutations au sein des promoteurs des gènes *S*, de manière à empêcher l'interaction TALE-ADN et donc l'induction du gène *S* (Figure 16.b). On observe alors une résistance dite par "perte de sensibilité". C'est le cas des allèles récessifs de *OsSWEET11/Xa13*, *OsSWEET13/Xa25* et *OsSWEET14/Xa41*, renommés respectivement *xa13*, *xa25* et *xa41* (Hutin et al. 2015a). Il existe une quantité importante de variétés de riz qui portent naturellement un allèle récessif *xa13*. Tous ces allèles diffèrent de *Xa13* par une insertion, délétion ou substitution dans l'EBE de PthXo1 (Römer et al. 2010). En ce qui concerne l'allèle récessif *xa25*, il diffère de *Xa25* par une délétion d'un seul nucléotide localisé dans l'EBE de PthXo2 (Zhou et al. 2015). Et quant à l'allèle récessif *xa41*, une délétion de 18 pb chevauchant les séquences reconnues par les effecteurs Tal5, PthXo3 et AvrXa7 a été identifié, conférant ainsi une forme de résistance à large spectre (Hutin et al. 2015b).

Un autre cas de résistance par perte de sensibilité apparaît lorsque la mutation est générée au sein de la séquence codante d'un gène. La région C-terminale des TALE contient des domaines qui interagissent avec des facteurs de transcription pour initier l'activation transcriptionnelle, et les unités TFIIA γ ont été décrites comme les facteurs de transcription interagissant avec les TALE dans le riz, les agrumes, le poivron et la tomate (Yuan et al. 2016; Huang et al. 2017). Dans le cas du facteur de transcription TFIIA γ 5, qui code pour l'une des sous-unités gamma du facteur général de transcription A nécessaire à la transcription dépendante de l'ARN polymérase II, on observe chez l'allèle récessif *xa5* un changement du 39^e aa d'une valine en une glutamine (Jiang et al. 2006; Iyer and McCouch 2007). Cette mutation dans le domaine N-terminal de la protéine diminue l'association entre TFIIA γ 5 et le domaine de liaison au facteur de transcription du TALE, ce qui est crucial pour une activation transcriptionnelle efficace (Yuan et al. 2016; Hui et al. 2019a; Han et al. 2020).

b) Induction des gènes exécuteurs (*E*)

Précédemment nous avons abordé le cas de la résistance provenant de la non-induction d'un gène de sensibilité; nous n'étions alors pas dans le cas d'une "ETI", mais dans celui d'une absence de déclenchement de la maladie ou "ETS compromise". Cependant un autre mécanisme de résistance existe, provenant de l'induction par les TALE de gènes dit exécuteurs (*E*), un gène dont l'induction empêche la croissance bactérienne via l'activation de processus de mort cellulaire (Figure 16.b, (Boch et al. 2014).

i. Le premier gène exécuteur identifié

Les gènes *E* codent pour des petites protéines de fonction inconnue et ne ressemblent pas aux protéines de résistance classiques que sont les NB-LRR. Le premier gène de résistance de type *E* à avoir été cloné chez le riz est le gène *Xa27* (Gu et al. 2005). Localisé sur le chromosome 6, il a été isolé par clonage positionnel (Gu et al. 2004). Les souches de *Xoo* portant le gène *tal avrXa27* sont en capacité d'induire *Xa27* et par conséquent la production d'une petite protéine de 113 aa sécrétée dans l'apoplaste, qui est toxique pour la cellule (Zhang et al. 2015). La surexpression de cette protéine entraîne un épaissement des éléments du faisceau vasculaire, ainsi qu'une HR bloquant totalement le développement de la bactériose vasculaire du riz (Wu et al. 2008). La résistance conférée par *XA27* est affectée par le stade de développement, augmentant avec l'âge des plantes et atteignant une résistance maximale à cinq semaines (Gu et al. 2004). Aucune protéine similaire n'a été rapportée en dehors du riz et les séquences protéiques de *XA27* chez la lignée sensible IR24 et la lignée résistante IRBB27 sont identiques. Ce qui les différencie est une délétion de trois nucléotides et la substitution d'un nucléotide dans l'EBE ciblé par *AvrXa27*. Une analyse de la diversité nucléotidique de *Xa27* reposant sur 27 accessions de riz sauvages et cultivés (*O. nivara* et *O. sativa*) a montré qu'IRBB27 était la seule variété à avoir une EBE fonctionnelle (Bimolata et al. 2013).

ii. Les autres gènes exécuteurs connus

A ce jour six gènes *E*, ainsi que leur effecteurs d'avirulence TALE associés, ont été clonés, à savoir *Bs3* et *Bs4C-R* chez le poivron (Römer et al. 2007; Strauß et al. 2012) et *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27* chez le riz (Gu et al. 2005; Tian et al. 2014; Wang et al. 2015a, 2021; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021).

- *Bs3* et *Bs4C*

Chez le poivron, le gène de résistance *Bs3*, isolé par clonage positionnel (Jordan et al. 2006), code pour une protéine de 342 aa présentant des homologies avec les protéines de la famille FMO ("flavin-dépendant mono-oxygénase"), et plus particulièrement avec celles de la sous-classe *Yucca* d'*Arabidopsis* (Römer et al. 2007). Ces dernières sont connues pour jouer un rôle dans la biosynthèse de l'auxine et dans des réponses développementales et physiologiques, et dans la réponse immunitaire. *Bs3* est directement induit par le TALE *AvrBs3* de *X. euvesicatoria*, conduisant à une HR (Römer et al. 2007).

En ce qui concerne le gène *Bs4C*, il est induit par le TALE *AvrBs4* de *X. euvesicatoria* et est le premier gène *E* à avoir été identifié par une approche de transcriptomique, combinée à de la prédiction de cible (Strauß et al. 2012). Ce gène est présent chez les plantes résistantes (*Bs4C-R*) et

sensibles (*Bs4C-S*), et ce qui empêche la fixation de *AvrBs4* au promoteur de *Bs4C-S* s'explique par un polymorphisme de deux nucléotides situé au niveau de son EBE.

- *Xa7*

Xa7 a été identifié à l'origine dans le cultivar de riz DV85 et cartographié finement sur un intervalle d'environ 118,5 kb sur le chromosome 6 (Chen et al. 2008). Ce gène code pour une protéine de 113 aa qui contient des domaines transmembranaires putatifs et qui n'a pas d'homologues chez d'autres plantes. Cette protéine est ancrée dans la membrane du réticulum endoplasmique et son expression ectopique déclenche la mort cellulaire chez les plantes monocotylédones et dicotylédones (Wang 2021). *Xa7* est ciblé par deux TALE, *AvrXa7* et *PthXo3*, et son activation est corrélée à des niveaux élevés de protéines PR et déclenche une HR chez le riz et le tabac en système hétérologue (Chen et al. 2021). De plus, il s'avère que ce gène *R* est plus efficace que d'autres à des températures élevées (Webb et al. 2010). Il a aussi été démontré que le gène *E Xa7* est hautement durable, de part le fait qu'*AvrXa7* joue un double rôle, le premier dans l'avirulence, en ciblant le gène *E Xa7*, et le deuxième dans la virulence, en ciblant le gène *S OsSWEET14* (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010; Chen et al. 2010). *AvrXa7* est considéré comme un facteur de virulence important, car distribué dans diverses souches de *Xoo* (Hopkins, 1992 ; Yang et al., 2000), cependant certaines souches isolées, perdant la capacité d'induire la résistance associée à *Xa7*, ont été rapportées comme faiblement virulentes, vraisemblablement en raison de mutations dans *AvrXa7* (Vera Cruz et al. 2000) **(pour plus de détails voir paragraphe V.5.a)**.

- *Xa10*

Xa10, qui confère une résistance à certaines races de *Xoo* des Philippines, a été identifié pour la première fois à partir du cultivar de riz Cas 209 (Lee et al. 2003; Gu et al. 2008). Ce gène, localisé sur le long bras du chromosome 11, code pour une protéine de 126 aa à quatre hélices transmembranaires qui forme des hexamères (Yoshimura et al. 1995; Tian et al. 2014), Lorsque *Xa10* est induit par le TALE *AvrXa10* de *Xoo*, la protéine se localiserait au niveau du réticulum endoplasmique de la cellule hôte et serait associée, dans un contexte de résistance, à l'augmentation de calcium dans le cytoplasme, ce qui activerait la mort cellulaire programmée. *Xa10* est actif à tous les stades de développement (Tian et al. 2014), et contrairement à *Xa27* et *Bs4C-R*, sa séquence codante est absente dans les variétés sensibles. Cependant, des séquences apparentées sont trouvées dans d'autres variétés, incluant celle de *Xa23* (Wang et al. 2015a).

- *Xa23*

Un autre gène exécuteur *Xa23*, isolé d'une espèce de riz sauvage, *O. rufipogon*, confère un spectre de résistance extrêmement large aux souches de *Xoo* isolées de différentes régions, à tous les stades de croissance du riz. *Xa23*, situé sur le chromosome 11, code pour une protéine de 113 aa qui partage 50% d'identité avec *XA10*, et dont des hélices transmembranaires sont prédites (Wang et al. 2015a). *XA10* et *XA23* possèdent tous deux un motif de fonction inconnue composé de cinq résidus d'aa (EDDEE et DNDDD, respectivement) à l'extrémité C-terminale (Tian et al., 2014). L'altération du motif ED dans *XA10* abolit l'activité HR (Tian et al., 2014). Par ailleurs, il a été démontré qu'en réponse à l'activation transcriptionnelle par *AvrXa23*, *Xa23* déclenche une HR chez le riz, le tabac et la tomate, mais le mécanisme d'activation de la mort cellulaire programmée reste encore inconnu. Comme *Xa27*, *Xa23* partage la même séquence codante que l'allèle sensible *xa23*. Toutefois, il diffère de ce dernier par un polymorphisme de 7pb dans sa région promotrice, entraînant l'induction de *Xa23*, mais pas de *xa23*, par *AvrXa23* (Wang et al. 2015a). *AvrXa23* s'est avéré être fortement conservé dans les populations de *Xoo* testées ce qui explique son large spectre d'efficacité (Wang et al. 2014a).

c) *Xa1/Xo1* et *Bs4C* : des exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant

Deux exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant sont connues à ce jour, les gènes *Bs4* et *Xa1* de la tomate et du riz respectivement, qui codent pour des NB-LRR (Yoshimura et al. 1998; Schornack et al. 2004). Ces derniers ne sont pas induits par les TALE, et reconnaissent ces ET3 indépendamment de leur séquence en RVD et de leur domaine d'activation de la transcription (AD). *Bs4* code pour une protéine TIR-NB-LRR qui est induit de façon constitutive chez la tomate, et dont l'expression n'augmente pas même en présence de *X. euvesicatoria*. Cette protéine NB-LRR perçoit *AvrBs4* dans le cytoplasme de la cellule, conduisant à une HR (Ballvora et al. 2001; Schornack et al. 2004, 2005). *Xa1*, quant à lui, a été le premier gène NB-LRR décrit comme un gène *R* actif contre une maladie bactérienne chez le riz (Yoshimura et al. 1998). Ce NB-LRR contient un domaine zfBED en N-terminal et six répétitions en tandem hautement conservées dans la région C-terminale, qui seraient responsables de la reconnaissance des TALE (Yoshimura et al. 1998; Read et al. 2020a). Plusieurs TALE de *Xoo*, incluant *PthXo1*, *Tal4* et *Tal9d* de la souche PXO99^A, ont été exprimés individuellement dans une souche mutante de PXO99^A ne contenant aucun TALE. Ces souches mutantes ont ensuite été testées sur des variétés portant le gène *Xa1*, telle que IRBB1, et ont été reconnues pour entraîner une HR (Ji et al. 2016). On connaît peu de choses sur le mécanisme de déclenchement de cette HR, mais il a été démontré que *Xa1* agit à l'intérieur du noyau (Figure 16.b, (Ji et al. 2016). Toujours chez le riz un autre gène nommé *Xo1*, allélique de *Xa1*, a été identifié en réponse aux souches Africaines de *Xoc*, agent causal de la BLS, et fonctionne

de façon similaire à *Xa1* (Triplett et al. 2016). *Xo1* est une protéine de type NB-LRR caractérisée par une région N-terminale qui comprend aussi un domaine zfBED et cinq répétitions en tandem hautement conservées (Read et al. 2020a, b). Ce gène déclenche une HR en présence des TALE de *Xoo* et *Xoc*. Il a été démontré que 3,5 répétitions minimum peuvent suffire à la reconnaissance d'un TALE et que cette dernière est abolie en l'absence de la région N-terminale (comme pour *Xa1* et *Bs4*) (Triplett et al. 2016). Récemment d'autres allèles de *Xa1* et *Xo1* ont été caractérisés dans plusieurs variétés de riz, nommés *Xa2*, *Xa14*, *Xa31(t)* et *Xa45(t)* (Ji et al. 2020; Zhang et al. 2020). L'analyse de ces allèles fonctionnels a mis en évidence l'absence systématique d'un motif "intervenant" présent dans les allèles non fonctionnels, ainsi que des différences dans le nombre de répétitions en tandem centrales (4 à 7) qui pourraient expliquer les différences dans leur activité (Zhang et al. 2020). Un criblage phénotypique pour la résistance de type *Xa1* dans 87 accessions de riz a révélé sa présence dans 16 d'entre elles, y compris différentes espèces de riz sauvages et cultivées telles que *O. glaberrima*, *O. nivara* et *O. sativa* (Ji et al. 2020). Une étude complémentaire sur plus de 500 accessions de *O. sativa* a révélé que les allèles de *Xa1* étaient présents chez les sous-espèces *aus*, *indica*, *japonica* tempérées et tropicales (Zhang et al. 2020). En 2016, 2 équipes ont découvert en parallèle deux TALE interférant/tronqués (iTALE/truncTALE) (Tal3a et Tal2h respectivement identifiés chez *Xoo* et *Xoc*) ayant la capacité de supprimer la résistance médiée par *Xa1* et *Xo1* (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). **Ce cas particulier de contournement de la résistance sera détaillé dans le paragraphe suivant (voir V. 5. a)).**

5. Les différents cas de contournement de la résistance par *Xoo*

Comme expliqué précédemment (paragraphe I.4.), le contournement de la résistance, aussi appelée ETS, est une stratégie mise en place par l'agent pathogène pour détourner la PTI et/ou l'ETI, afin de favoriser le développement des symptômes (Jones and Dangl 2006). Ces dernières années plusieurs études ont rapporté différents subterfuges mis en place par les souches de *Xoo* leur permettant de déjouer des gènes de résistance majeurs (Vera Cruz et al. 2000; Ji et al. 2016; Read et al. 2016; Quibod et al. 2020).

a) Contournement de la résistance *Xa4*: expansion de la race 2

La révolution verte ayant remplacé les variétés traditionnelles de riz par des variétés à haut rendement, une pression de sélection uniforme sur les populations de pathogènes a été créée, rendant leur évolution plus rapide. Récemment, Quibod et ses collaborateurs (2020) ont analysé un registre historique unique de pathogènes, afin d'évaluer l'impact d'un gène de résistance majeur, *Xa4*, dans la structure de la population de *Xoo* collectées aux Philippines sur une période de plus de 40 ans (Quibod et al. 2020). Après le déploiement de *Xa4* au début des années 1960, l'émergence de

groupes de pathogènes virulents a été associée par Mew et ses collaborateurs (1992) à l'adoption croissante de variétés de riz portant *Xa4*, qui ont atteint 80 % de la surface totale plantée (Mew 1992). L'analyse des génomes entiers a suggéré que les souches de *Xoo* de la race 2, contournant la résistance *Xa4*, ont développées différents mécanismes d'échappement, reposant sur des mutations telles que le décalage du cadre de lecture, une substitution non synonyme, ou encore un polymorphisme d'expression. Ces mutations toucheraient des fonctions de pathogénicité connues telles que le système de sécrétion, la dégradation de la paroi cellulaire, la détoxification des espèces réactives de l'oxygène et la production de lipopolysaccharides (Quibod et al. 2020).

b) Contournement de la résistance *Xa7*: expansion de la race 9b

Vera Cruz et ses collaborateurs (2000) ont évalué au champs l'adaptation de souches de *Xoo* avirulentes sur des lignées quasi-isogéniques de riz portant les gènes de résistance *Xa4*, *Xa7* et *Xa10* individuellement, et ceux sur trois années, sur deux sites endémiques de la BLB aux Philippines. De ces tests en sont ressorties les conclusions suivantes: sur IR24, variété sensible, ainsi que sur IRBB4 (portant *Xa4*) et IRBB10 (portant *Xa10*), le développement de la maladie est sévère. Au contraire sur IRBB7 (portant *Xa7*) peu de symptômes sont observés. Ces résultats suggèrent alors que *Xa7* reste effectif, dans une moindre mesure, contre les souches de *Xoo* présentes dans ces régions portant *avrXa7* (Vera Cruz et al. 2000). Les souches isolées sur IRBB7 regroupent diverses sous-classes de *Xoo* de la race 9, qui est virulente sur IRBB7. La race 9 se divise en plusieurs sous-groupes allant de la race 9a à 9d, déterminés en fonction i) de la longueur des lésions qu'elle provoque sur IRBB7, ii) de la présence ou absence du système de modification de la restriction *XorI* et iii) de la présence ou l'absence du fragment BamHI correspondant à *avrXa7*. Les souches de la race 9a et 9d n'ont plus la possibilité d'induire *Xa7* dû à des réarrangements génétiques indéterminés ayant provoquer un polymorphisme au locus *avrXa7*, ce qui leur permet de contourner la résistance médiée par *Xa7*. Concernant les souches de la race 9c, elles présentent des mutations à l'extrémité 3' de l'allèle *avrXa7*, en comparaison avec la version connue de *avrXa7*, ce qui fait que comme les souches de la race 9a et 9d elles évitent la résistance médiée par *Xa7*. Et pour finir, les souches de la race 9b possèdent une version intacte de l'allèle *avrXa7* et provoquent de la maladie elles aussi sur IRBB7. Toutefois, Vera Cruz et ses collaborateurs suggèrent que l'agressivité réduite de ces souches sur IRBB7, en comparaison avec les souches des races 9a, 9c et 9d, leur a permis de se maintenir au champs année après année (Vera Cruz et al. 2000). En 2016, Quibod et ses collaborateurs décrivent l'émergence de la race 9b, qui est devenue le groupe le plus répandu après les épidémies de 1992 aux Philippines. Contrairement à ce qui semble être à l'origine de l'expansion de la race 2 (contournement de *Xa4*), pour Quibod et ses collaborateurs il semble très peu probable que le déploiement d'un seul gène de résistance puisse expliquer l'expansion de la race

9b dans tout l'archipel des Philippines. Outre l'aptitude apparente de la race 9b, ils supposent que des changements dans les modes de culture, l'utilisation d'engrais ou des changements environnementaux peuvent avoir contribué à son expansion (Quibod et al. 2016). Cependant à ce jour, le mécanisme d'évitement de la résistance médiée par *Xa7* par les souches de la race 9b, qui possèdent toujours *avrXa7*, reste encore inconnu. Une hypothèse a été émise toutefois, et un supposé nouveau TALE tronqué pourrait être impliqué dans l'évitement de cette résistance (communication personnelle de Perez-Quintero Alvaro Luis).

c) Contournement de la résistance *Xa1/Xo1* : les TALE interférant/tronqués

Parmi la famille des TALE il existe certains effecteurs, caractérisés par des délétions et l'absence de certains domaines fonctionnels, qui jouent un rôle important dans la pathogénicité sans impliquer d'activation transcriptionnelle. Cette catégorie de TALE, connus sous le nom de iTALE (pour "interfering TALE") ou truncTALE (pour "truncated TALE"), ont été rapportés jusqu'à présent uniquement chez des souches de *Xoo* et *Xoc* Asiatiques, respectivement. Leur nom respectif provient de leur rôle d'interférence dans la reconnaissance des TALE par les protéines R de l'hôte, ou encore de leur architecture de TALE tronqué. La différence structurelle entre les TALE classique et les iTALE/truncTALE se base des délétions au niveau de la région N-terminale (après les 306 premiers nucléotides, préservant ainsi le signal d'exportation), ainsi qu'au niveau de la région C-terminale où certains NLS sont encore présents mais ce qui n'est plus le cas pour le domaine d'activation. (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). En l'absence d'iTALE/truncTALE, les NB-LRR *Xa1* ou *Xo1* reconnaissent les TALE et déclenchent la résistance (Figure 16.b). Inversement, l'injection d'un iTALE/truncTALE dans la cellule hôte par l'agent pathogène permet aux TALE traditionnels d'éviter la reconnaissance médiée par *Xa1* ou *Xo1* et d'entraîner le déclenchement ultérieur de la maladie (Figure 16.c, (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). Read et ses collaborateurs (2020) ont mis en avant grâce à une expérience de co-immuno-precipitation (Co-IP) l'interaction du TruncTALE Tal2h avec la protéine NB-LRR *Xo1*. Cependant, si cette interaction est directe ou non reste à être déterminé, et conduit à émettre l'hypothèse que les TruncTALE/iTALE sont en capacité d'empêcher la reconnaissance des TALE par les NB-LRR *Xo1/Xa1*. Toutefois, l'interaction entre *Xo1* et les TALE traditionnels n'a pu être démontré par Co-IP ; ceci pourrait être la conséquence d'une interaction trop transitoire, ou instable, ou bien encore que le phénotype de HR ne permet pas de l'observer (Read et al. 2020b).

6. Les applications des TALE en science

a) Les outils bioinformatiques développés

i. Prédiction des cibles de TALE

Des logiciels bioinformatiques ont été développés depuis la découverte du code TALE, permettant de prédire les cibles potentielles des TALE.

Target Finder est un outil de la suite TAL Effector Nucleotide Targeter (TALE-NT) (<http://tale-nt.cac.cornell.edu/> ; Doyle et al. 2012), qui identifie les sites de liaison potentiels pour un TALE avec une séquence RVD spécifiée par l'utilisateur, en utilisant une matrice de poids de position basée sur les fréquences d'association RVD-nucléotide observées dans les TALE naturels (Doyle et al. 2012). La version web de l'outil possède des génomes et des séquences promotrices pour plusieurs organismes modèles préchargés pour la recherche, mais il accepte également les séquences téléchargées ou collées dans une zone de texte sur le site au format FASTA.

Talvez (<http://bioinfo-prod.mpl.ird.fr/cgi-bin/talvez/talvez.cgi>) recherche les sites de liaison possibles à l'aide d'une matrice de poids de position (PWM) similaire à celle utilisée par Target Finder (Pérez-Quintero et al. 2013). Il diffère de Target Finder en attribuant à certains RVD rares les mêmes comptes d'observation que le RVD commun avec le même résidu en 13ème position, connu pour être le seul déterminant de la spécificité de liaison TALE-ADN. Plusieurs séquences promotrices végétales et fongiques sont préchargées sur le site pour la recherche, ainsi qu'un ensemble de séquences en RVD et un ensemble de séquences nucléotidiques formatées en FASTA dans lesquelles il est possible de rechercher les cibles potentielles de ces chaînes de RVD.

TALgetter (<http://www.jstacs.de/index.php/TALgetter>) fait partie du cadre Jstacs (Grau et al. 2012) et identifie les sites de liaison potentiels en utilisant un modèle de mélange local (Grau et al. 2013b). Dans ce modèle, en plus d'une probabilité pour chaque RVD de s'apparier avec chaque nucléotide, chaque RVD est considéré comme ayant une "importance", indiquant la probabilité qu'il interagisse avec l'ADN. TALgetter accepte en entrée un fichier FASTA de séquences d'ADN pour rechercher des sites de liaison, et la séquence RVD d'un seul effecteur TAL pour interroger les séquences d'ADN. Les génomes de plusieurs animaux modèles, du riz et d'*A. thaliana* sont préchargés pour la recherche, ainsi que les séquences promotrices du riz.

ii. Design des TALE

La séquence en RVD étant modifiable à souhait par des techniques de clonage appropriées, cette découverte a permis le développement de TALE artificiels (ArTALE ou dTALE pour "designerTALE"). Dessinés pour se lier de façon spécifique à une EBE d'intérêt, les ArTALE permettent d'induire n'importe quel gène et représentent un outil idéal pour comprendre le rôle des

gènes de résistance et de sensibilité chez l'hôte. Pour aider à la conception de ces ArTALE/dTALE des outils bioinformatiques ont été développés.

TAL Effector Targeter par exemple, conçoit des réseaux de répétitions (RVD) pour cibler des séquences d'ADN particulières. Il est disponible à la fois en tant que programme open source téléchargeable et en tant qu'outil web faisant partie de la suite TALE-NT (Doyle et al. 2012). Une caractéristique utile de TAL Effector Targeter est sa capacité à évaluer la spécificité des TALE conçus en prédisant les sites de liaison dans la séquence cible prévue, ainsi qu'à indiquer les cibles non désirées ("off-targets").

L'outil d'assemblage de séquences de plasmides TAL (ou "**TAL Plasmids Sequence Assembly Tool** ") (<http://bit.ly/assem-bleTALsequences>) est un site web développé par le laboratoire Bao de l'Institut de technologie de Géorgie qui génère les séquences d'ADN plasmidique nécessaires pour fabriquer des constructions de TALE en utilisant différentes méthodes d'assemblage.

iii. La suite QueTAL

La suite QueTAL a été développée pour offrir des outils sur mesure pour la comparaison des gènes *tal* : DisTAL et FuncTAL. Ces outils permettent d'aligner et de classer les séquences de gènes *tal* en fonction de leur région centrale de répétition (Pérez-Quintero et al. 2015).

Le programme DisTAL considère chaque répétition d'un TALE comme une unité, il transforme alors la séquence d'un TALE en une séquence de répétitions codées et fait des alignements par paire entre plusieurs séquences, afin d'inférer des relations phylogénétiques entre les gènes et construire des arbres. L'algorithme utilisé pour comparer les séquences était initialement conçu pour comparer les séquences microsatellites (ARLEM version 1.0, (Abouelhoda et al. 2010). Le programme FuncTAL, quant à lui, a pour but de trouver des TALE ayant des capacités de liaison à l'ADN similaires. Il calcule les corrélations entre les matrices de poids de position de la séquence d'ADN cible potentielle, prédite à partir de la séquence en RVD, et construit des arbres basés sur ces corrélations. Ensemble, ces programmes ont pour but d'aider les chercheurs à déduire les relations évolutives et fonctionnelles au sein et entre les groupes d'effecteurs TAL (Pérez-Quintero et al. 2015).

Par exemple, l'outil DisTAL a été utilisé par Lang et ses collaborateurs (2019) pour une étude de génomique comparative, ce qui leur a permis de regrouper les souches de *X. oryzae* pv. *leersiae* et de *Xoo* Africaines dans un même sous-groupe, comprenant également des *Xoc*. Cet outil a également permis de classer les TALE de *X. oryzae* pv. *leersiae* en 12 groupes (Lang et al. 2019).

b) TALE et édition de génome

Les TALE accompagnés d'autres protéines ont été utilisés non seulement pour l'activation ciblée de gènes, comme décrit précédemment, mais aussi pour la répression de gènes, la modification de la chromatine, le marquage de la chromatine pour la visualisation et la capture (Miyanari et al. 2013; Byrum et al. 2013; Fujita et al. 2013), et plus largement, pour l'édition du génome, en tant que TALE nucléases (TALEN pour "TAL Effector Nuclease") (Voytas and Joung 2009; Bogdanove and Voytas 2011). La technologie TALEN est un autre outil important issu de la découverte du code TALE, qui permet entre autres de créer des cassures double-brin dans l'ADN à un endroit précis du génome, quant fusionné à un domaine nucléase (e.g. FokI) (Voytas and Joung 2009; Bogdanove and Voytas 2011). La conception des TALEN demandant certaines exigences, c'est pourquoi plusieurs outils informatiques ont été développés pour aider à la conception, ainsi qu'à l'assemblage et à la prédiction des cibles non désirées (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009; Christian et al. 2010; Miller et al. 2010; Streubel et al. 2012; Meckler et al. 2013).

TALEN Targeter, qui fait partie de la suite d'outils TALE-NT (Doyle et al. 2012), conçoit des TALEN qui ciblent des séquences spécifiées par l'utilisateur. Une caractéristique clé de TALEN Targeter est sa capacité à évaluer la spécificité des TALEN conçus en prédisant tous les sites cibles potentiels dans la séquence d'entrée. **TALENoffer** (<http://www.jstacs.de/index.php/TALENoffer>) est une extension du modèle TALgetter qui prédit les sites cibles pour les TALEN (Grau et al. 2013a). D'autres logiciels de design de TALEN sont disponibles : **Mojo Hand** (<http://talendesign.org/>) (Neff et al. 2013), **E-TALEN** (<http://www.e-talen.org/>) (Heigwer et al. 2013), **SAPTA** (http://baolab.bme.gatech.edu/Research/Bioinformatic-Tools/TAL_targeter.html) (Lin et al. 2014), et **PROGNOS** (<http://baolab.bme.gatech.edu/Research/BioinformaticTools/prognos.html>) qui prédit les cibles non désirées ("off-targets") des TALEN et fournit des séquences d'amorces pour le séquençage d'amplicons à sur la cible après le traitement TALEN (Fine et al. 2014). Il est hébergé sur le même site web que SAPTA mais n'est pas intégré à SAPTA.

En 2012, une nouvelle découverte vient révolutionner la biologie : le mécanisme CRISPR-Cas9 de défense bactérienne contre les virus (Jinek et al. 2012). Alors que l'outil de biotechnologie TALE, TALEN, est en plein essor, l'utilisation du système CRISPR-Cas9, entre autres pour éditer les boîtes cibles des TALE, monte en flèche, provoquant une véritable révolution dans le domaine de la biologie. La nucléase Cas9 est contrôlée dans sa spécificité de cible par l'intégration d'un ARN guide. Dans le système naturel, cet ARN est formé de deux composants exprimés à partir du locus CRISPR ("Clustered Regulatory Interspaced Short Palindromic Repeat") : le crRNA contenant la séquence cible et un tracrRNA impliqué dans le traitement du pré-crRNA et l'assemblage du

complexe Cas9. Des méthodes alternatives ont été explorées pour fusionner ces deux composants et les exprimer à partir d'un seul gène, créant ainsi la séquence de l'ARN guide ou ARNsg ("single guide") (Hsu et al. 2013). Au sein de celle-ci, une région de 20 pb, appelée espaceur, guide la nucléase Cas9 vers une séquence cible complémentaire, appelée protospacer. La spécificité de la cible est modifiable en changeant la séquence de l'espaceur. Depuis CRISPR-Cas9, les TALEN semblent être devenus un lointain souvenir dans l'édition du génome. Néanmoins, les technologies basées sur les TALEN continuent d'être utilisées et trouvent une place dans les applications où elles offrent des avantages par rapport au système breveté CRISPR-Cas9 (De Lange et al. 2014; Lebar and Jerala 2016).

VI. *Xanthomonas oryzae*

1. L'espèce *X. oryzae*

a) Origines et répartitions

L'espèce *X. oryzae* est composée de plusieurs pathovars/sous-espèces, dont les origines et répartitions sont variées. La BLB ("Bacterial Leaf Blight" ou bactériose vasculaire) a été caractérisée pour la première fois dans la préfecture de Fukuoka au Japon en 1884. On pensait à l'origine qu'elle était causée par un sol acide (Tagami and Mizukami 1962; Mew 1989). En 1909, des bactéries ont été isolées des gouttes de rosée de feuilles de riz infectées, et la maladie a été reproduite en inoculant ces gouttes à des feuilles saines. Peu après, son étiologie en tant que maladie bactérienne a été établie, et l'agent causal a été isolé et classé comme *Bacillus oryzae* (cité par Mizukami and Wakimoto 1969). La bactérie a été rebaptisée *Pseudomonas oryzae*, puis *Xanthomonas oryzae* (Ishiyama, 1922). En 1978, elle a été reclassée sous le nom de *X. campestris* pv. *oryzae* (Dye, 1978). Concernant la BLS ("Bacterial Leaf Streak" ou bactériose à stries foliaires) cette maladie bactérienne a été découverte pour la première fois aux Philippines en 1918 et nommée "bacterial stripe" (cité par Ou, 1972) bien qu'elle ait été appelée à tort "bacterial blight" pendant plusieurs années. En 1957, Fang et ses collaborateurs caractérisent de nouveau la maladie et la distinguent de la bactériose vasculaire; elle est nommée bactériose à stries foliaires. L'agent causal de cette maladie reçoit alors le nom de *Xanthomonas oryzicola* (cité par Ou, 1972). L'agent pathogène a ensuite été renommé *X. translucens* f. sp. *oryzae* (cité par Ou, 1972), puis *X. translucens* f. sp. *oryzicola* et enfin *X. campestris* pv. *oryzicola* (Ou 1985). En 1990, les deux pathogènes, de la BLB et BLS, ont été élevés à leur statut actuel de nouvelle espèce et nommés *X. oryzae* pv. *oryzae* et *X. oryzae* pv. *oryzicola* (Swings et al. 1990; Goto 1992). Ces pathovars appartiennent à la famille des *Xanthomonadaceae* et sont de la classe des *Gammaproteobacteria*. La BLB et la BLS sont endémiques dans une grande partie de l'Asie et dans certaines parties de l'Afrique de l'Ouest. La BLB est répandue dans les zones tropicales et tempérées, et a également été signalée en Australie,

en Amérique latine et dans les Caraïbes (Mew 1993). En Afrique, la BLB a été signalée pour la première fois au Mali en 1979 (Buddenhagen 1979), puis elle a ensuite été rapportée au Sénégal, au Niger, au Nigeria, au Gabon, en Mauritanie, au Bénin, au Cameroun, et plus récemment au Burkina Faso (Trinh 1980; Reckhaus 1983; Manser 1984; Jones et al. 1991; Gonzalez et al. 2007). La BLS quant à elle, est limitée en grande partie à l'Asie tropicale et subtropicale, y compris le sud de la Chine, la Thaïlande, la Malaisie, l'Inde, le Vietnam, les Philippines et l'Indonésie, mais elle touche également les régions rizicoles du nord de l'Australie (Singh et al. 1980; Ou 1985; Sigee 1993; Awoderu et al. 2008) et est devenue récemment un problème important dans certaines parties de l'Afrique de l'Ouest (Wonni et al. 2011). Depuis ces dernières années la BLS a aussi été identifiée à Madagascar (Poulin et al. 2014), en Ouganda (Afolabi et al. 2014), au Burundi (Afolabi et al. 2016) et en Côte d'Ivoire (Diallo et al. 2021).

Bien que *X. oryzae* ne soit pas considérée comme endémique aux Etats-Unis (Niño-Liu et al. 2006), une bactérie semblable a été isolée du riz et d'une graminée pérenne *Leersia hexandra* dans des rizières du Texas et de Louisiane en 1987 (Jones 1989). Un projet de séquençage génomique de deux souches américaines de *Xanthomonas* (X11-5A (Texas) et X8-1A (Louisiane)) a révélé que les souches américaines forment un nouveau clade au sein de l'espèce *X. oryzae*, distincte de toutes les souches connues pour causer des pertes de rendement importantes. Les souches américaines sont peu virulentes sur le riz (Jones 1989) et génétiquement distinctes des pathovars caractérisés jusqu'alors de *X. oryzae* (*Xoo* et *Xoc*) (Ryba-White et al. 1995). Il a été démontré que la plupart des souches américaines sont porteuses d'un ou plusieurs plasmides et sont dépourvues de TALE (Ryba-White et al. 1995). Ces résultats ont conduit à supposer que les souches américaines de *Xanthomonas* étaient très divergentes de celles trouvées en Asie et n'avaient pas pénétré aux États-Unis dans un passé récent.

Une autre espèce, *X. campestris* pv. *leersiae* (*Xcl*) renommée ultérieurement *X. oryzae* pv. *leersiae* (*Xol*), a été décrite pour la première fois en 1957 (Fang et al. 1957). Cette bactérie provoque une strie bactérienne sur *Leersia hexandra*, une herbe commune que l'on trouve dans le sud des États-Unis, en Amérique du Sud, en Afrique et en Asie. Il est intéressant de noter que cette plante et d'autres graminées de ce genre, comme *Leersia sayanuka*, *Leersia oryzoides* et *Leersia japonica*, sont sensibles à *Xoo* (Noda and Yamamoto 2008) et peuvent servir de réservoirs pour l'inoculum (Gonzalez 1991). Par rapport à la souche virulente de *Xoo*, PXO99^A, les souches *Xol* sont moins agressives sur le riz, et provoquent des stries foliaires moins étendues sur plusieurs variétés de riz. Les études de Lang et ses collaborateurs montrent que *Xol* est un pathogène de *Leersia hexandra* et est légèrement pathogène pour diverses variétés de riz, mais qu'elle ne provoque pas de maladie sur l'orge ou le blé, et que certaines variétés de riz présentent une résistance à *Xol* (Lang et al. 2019).

NIL	<i>Xa</i> gene	New <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> races									Effectiveness of resistance (%)	
		A3	A4	A5		A6		A7	A8	A9	W- <i>Xa23</i>	N- <i>Xa23</i>
				A5-1	A5-2	A6-1	A6-2					
IR 24	<i>Xa18</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 1	<i>Xa1</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	67	57
IRBB 3	<i>Xa3</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	89	86
IRBB 4	<i>Xa4</i>	R	R	R	R	S	S	R	S	S	56	57
IRBB 5	<i>xa5</i>	R	R	S	S	S	S	S	S	S	22	29
IRBB 7	<i>Xa7</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 8	<i>xa8</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 10	<i>Xa10</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 11	<i>Xa11</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 13	<i>xa13</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 14	<i>Xa14</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 21	<i>Xa21</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 23	<i>Xa23</i>	R	S	S	R	R	S	S	S	S	33	–
Strains with <i>Xa23</i> (n)		5	6	7	3	2	11	2	5	4	–	–
Strains without <i>Xa23</i> (n)		5	6	10		13		2	5	4	–	–

Tableau 3. Races de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Africaines sur 12 lignées de riz quasi-isogéniques (NILs) contenant un seul gène de résistance dans le fond génétique IR24.

Quarante-cinq souches de *X. oryzae* pv. *oryzae* (41 souches de cette étude et quatre souches de référence) se regroupent en sept races notées A3 à A9. En utilisant *Xa23* dans le criblage des NILs, les races les plus dominantes et les plus hétérogènes (A6 et A5) sont subdivisées en deux sous-clusters de virulence. Chaque race est caractérisée par son profil de virulence sur les NILs et le nombre de souches lui appartenant est indiqué. La capacité des gènes *Xa* à contrôler les différentes races est affichée. W-*Xa23* = avec *Xa23*, N-*Xa23* = sans *Xa23*, R = résistant (longueur des lésions \leq 5 cm), et S = sensible (longueur des lésions $>$ 5 cm). D'après (Tekete et al. 2020).

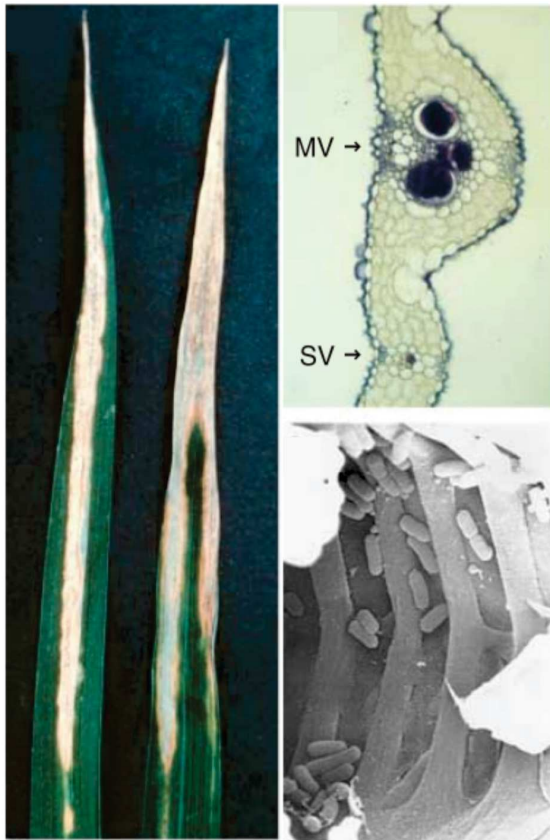
b) Diversité de *X. oryzae*

Les souches de *Xoo* peuvent être classées en différentes races en fonction des phénotypes de résistance observés sur des variétés de riz définies (Gonzalez et al. 2007). Des lignées quasi-isogéniques de riz (NIL également connues sous le nom de lignées IRBB) sont disponibles pour de nombreux gènes de résistance à la BLB, connus également sous le nom de *Xa*, y compris des lignées possédant un ou plusieurs gènes *R* (Ogawa et al. 1991; Huang et al. 1997). Les lignées IRBB ont été construites avec le fond génétique sensible de la variété IR24 (*indica*) dans lequel ont été introgressés les gènes de résistance *Xa* (e.g. les lignées IRBB1, IRBB2, etc, possède respectivement le gène de résistance *Xa1*, *Xa2*, etc). Une collaboration entre l'IRRI (Institut international de recherche sur le riz, Manilla, Philippines) et le Japon a permis d'établir des NIL, comme les IRBB, aussi dans le fond Toyonishiki (*japonica* tempéré), et les deux types de NIL (fond génétique IR24 et Toyonishiki) sont largement utilisées pour la caractérisation des races de *Xoo* (Ogawa 1993). À ce jour, plus de 30 races de *Xoo* Asiatiques ont été découvertes, ainsi que 9 races de souches Africaines de *Xoo* (Tableau 3, (Tekete et al. 2020).

Au laboratoire, les souches des deux pathovars (*Xoo* et *Xoc*) sont identifiées par des méthodes d'inoculation sur des plantes hôtes sensibles et différenciées en fonction du type de symptômes phénotypiques qu'elles présentent (Figure 19, (Yang and Bogdanove 2013). Outre l'observation des symptômes, et pour un diagnostic plus fiable, d'autres outils d'analyse de la diversité inter-espèces ont été développés tels que : la PCR multiplex, le diagnostic par LAMP ("loop-mediated isothermal amplification"), l'utilisation de marqueurs moléculaires de type AFLP, RFLP, RAPD ou encore la technique de MLST ("multilocus sequence typing"). En plus de la discrimination des pathovars, d'autres tests ont été développés pour différencier les souches de *X. oryzae* d'Afrique et d'Asie. En 2015, Poulin et ses collaborateurs développent un outil d'analyse de la diversité et de la structure des populations de *Xoo* : MLVA-16 (Multi locus VNTR Analysis) permettant de discriminer les souches de *X. oryzae*, ainsi que pour la surveillance de la BLB et de la BLS à différentes échelles temporelles et géographiques (Poulin et al. 2015).

En 2019, Lang et ses collaborateurs calculent l'ANI ("average nucleotide identity") entre cinq souches de *Xol* et tous les génomes de *X. oryzae* entièrement séquencés (Rodriguez-R and Konstantinidis 2016; Lang et al. 2019). Cette analyse a montré que les souches de *Xol* sont identiques à 99-100 % les unes aux autres, et qu'elles sont identiques entre 97 % et 99 % aux souches US de *Xo*, aux *Xoc* et aux *Xoo*, et se rapprochant des *Xoc* à 98,5 %. Par ailleurs, les *Xol* sont 76-91% similaires aux autres espèces de *Xanthomonas*. La prédiction computationnelle des ET3 parmi les protéines annotées dans chaque génome a révélé que le répertoire d'ET3 non-TALE de *Xol* ressemble plus étroitement à celui de *Xoc*. Néanmoins, certaines caractéristiques sont uniques à *Xol*. Il a été rapporté que les souches de *Xol* contenaient 12 ou 13 *tal* chacune, ce qui est

*Xanthomonas
oryzae* pv. *oryzae*



*Xanthomonas
oryzae* pv. *oryzicola*

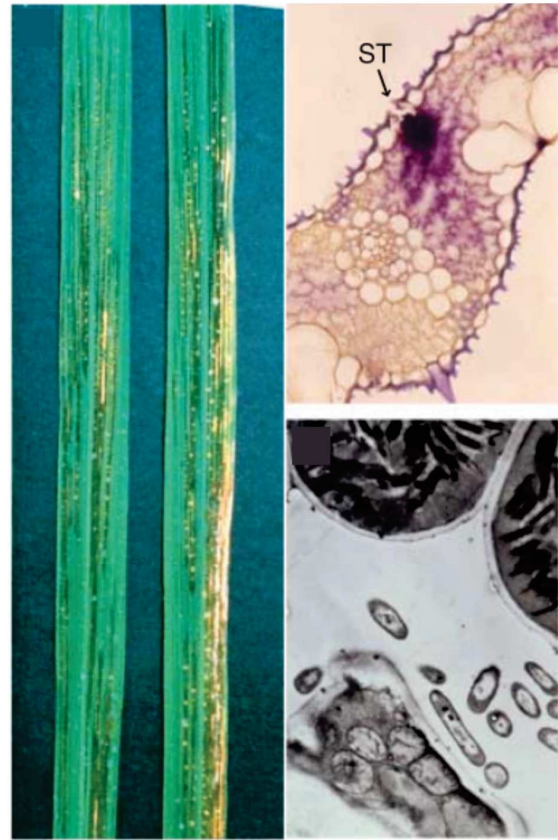


Figure 19. Symptômes typiques provoquées par *Xoo* et *Xoc* sur le riz, et leur localisation cellulaire lors de l'infection.

Spécificité du tissu hôte des pathovars de *Xanthomonas oryzae*. Panel de gauche : Feuilles de riz avec des lésions de bactériose s'étendant le long des nervures à partir de l'extrémité et des bords de la feuille, résultant de l'invasion du xylème via les hydathodes par *X. oryzae* pv. *oryzae*. Coupe transversale d'une feuille de riz infectée par *X. oryzae* pv. *oryzae*, colorée pour montrer l'emplacement des cellules bactériennes, apparaissant en bleu foncé à violet dans les vaisseaux du xylème de la nervure moyenne (MV) et d'une nervure secondaire (SV). Micrographie électronique à balayage de cellules de *X. oryzae* pv. *oryzae* dans un vaisseau du xylème d'une feuille de riz.

Panel de droite : Feuilles de riz présentant des symptômes de stries foliaires causés par la colonisation du tissu internervaire via les stomates par *X. oryzae* pv. *oryzicola*. Coupe transversale d'une feuille de riz infectée par *X. oryzae* pv. *oryzicola* colorée montrant la colonisation bactérienne de la chambre sous-matale et du parenchyme du mésophylle. Stomate (ST). Micrographie électronique à transmission des cellules de *X. oryzae* pv. *oryzicola* dans les espaces intercellulaires du parenchyme mésophylle d'une feuille de riz. D'après (Nino-Liu et al. 2006).

plus que les neuf *tal* par génome trouvés chez les *Xoo* africaines, et moins que ce qui est communément trouvé chez les *Xoc* (22-29 *tal*) et *Xoo* asiatiques (13-20 *tal*). Aucun TALE tronqué n'a été identifié dans les génomes de *Xol*. Par ailleurs, en comparant les régions centrales des TALE présents chez les souches de *Xoo*, *Xoc* et *Xol*, une nouvelle combinaison de RVD "TI", non rapportée précédemment chez d'autres espèces, a été identifiée (Lang et al. 2019).

2. *X. oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

L'agent responsable de la bactériose vasculaire du riz, considérée comme la maladie la plus dévastatrice du riz en Asie, est la bactérie à gram négatif *Xoo*. La BLB peut en effet causer jusqu'à 50 % de perte de rendement en fonction de la variété de riz, du stade de croissance de l'infection, de l'emplacement géographique et des conditions environnementales (Liu et al. 2014). *Xoo* colonise les feuilles via les hydathodes, et/ou via les blessures. Une fois entrée, elle se multiplie dans l'espace intercellulaire sous-jacent et se propage de façon systémique dans le reste de la plante via les vaisseaux du xylème. Les symptômes caractéristiques de la BLB sont des lésions jaunes ou vertes foncées aqueuses puis nécrotiques qui se propagent le long de la feuille au fur et à mesure de l'avancée bactérienne. Ceci entraîne un dessèchement des tissus photosynthétiques affectant le rendement en grain (Niño-Liu et al. 2006). Les TALE sont des facteurs de virulence majeurs au sein de ce pathosystème.

3. Les souches Africaines de *Xoo* vs les souches Asiatiques de *Xoo*

a) Les différences générales entre les souches de *Xoo* Africaines et Asiatiques

La plupart des études sur les souches de *Xoo* ont été réalisées sur les souches Asiatiques. Les souches Africaines de *Xoo* découvertes plus récemment (1980) sont génétiquement éloignées des souches Asiatiques et étroitement apparentées aux bactéries du pathovar *oryzicola* (*Xoc*) (Figure 20). Une caractéristique particulière des *Xoo* Africaines est leur TALome restreint par rapport aux *Xoo* Asiatiques, avec respectivement jusqu'à 9 et jusqu'à 19 copies. Par ailleurs, aucun TALE n'est conservé entre les souches Africaines et Asiatiques (Lang et al. 2019). En 2018, l'analyse comparative du TALome de plusieurs souches Africaines a mis en évidence que, malgré la haute conservation des TALomes africains, plusieurs groupes TALE sont polymorphes au niveau de leur RVD (Figure 21, (Doucouré et al. 2018; Tran et al. 2018). Les *Xoo* Africaines se distinguent également par le nombre et le type de races qu'elles constituent (9 vs >30 pour les Asiatiques), et dont aucune n'a jamais été rapportée en Asie (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020).

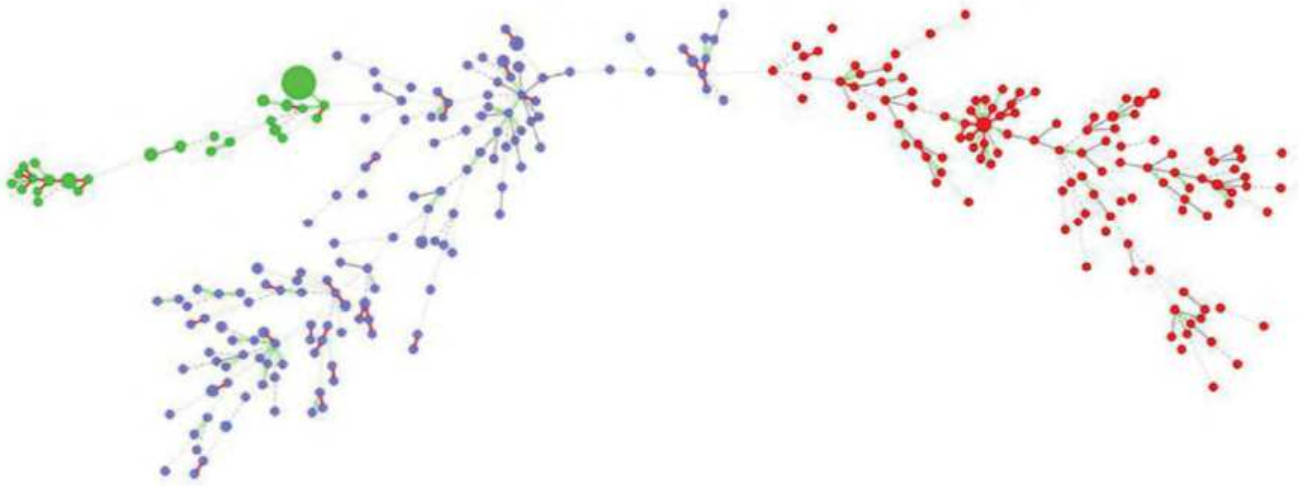


Figure 20. "Minimum spanning tree" d'une collection mondiale de *Xanthomonas oryzae*.

L'outil MLVA16 ("Multi Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis 16 loci panel") a permis l'analyse de 16 locus de *Xanthomonas oryzae* à partir de "variable number tandem repeat" (VNTR). Les cercles sont proportionnels au nombre de souches par haplotype, et cette représentation permet d'observer les distances génétiques des différentes souches de *Xo*. Vert : *Xoo* d'Afrique, rouge : *Xoo* d'Asie et bleu : *Xoc*. Le MST a été généré à l'aide de Bionumerics 7.1. D'après (Poulin et al. 2015).

Bien que différentes sur un bon nombre de traits, les souches Africaines et Asiatiques de *Xoo* déclenchent la maladie chez le riz via le même mécanisme, et l'induction de cibles communes telles que *OsSWEET14* et *OsTFX1* (Figure 18).

b) Déclenchement de la résistance : des cibles diverses

Le pathosystème Riz-*Xoo* constitue un système modèle pour l'étude des interactions plantes-pathogènes au niveau moléculaire. Des recherches intensives au cours de la dernière décennie ont révélé que la résistance et la sensibilité du riz à *Xoo* sont généralement contrôlées par des interactions moléculaires entre les effecteurs de *Xoo* et ses gènes cibles chez le riz. Actuellement, 46 gènes *R* à *Xoo* ont été découverts chez le riz (Cheema et al. 2008; Busungu et al. 2016; Vikal and Bhatia 2017). Ces gènes ont été identifiés à partir de populations mutantes, d'espèces de riz cultivées et sauvages et confèrent une résistance contre différentes souches de *Xoo* (Tableau 4). Sur les 46 gènes, 16 sont récessifs et 12 ont été clonés et caractérisés. Les gènes de résistance identifiés codent pour différents types de protéines qui suggèrent de multiples mécanismes de résistance à *Xoo* (Liu et al. 2011c; Tian et al. 2014). La majorité de ces gènes confèrent une résistance complète, spécifique à la race de l'agent pathogène. Parmi les 12 gènes *R* du riz, qui contrôlent *Xoo*, caractérisés à ce jour, neuf (*Xa1*, *xa5*, *Xa7*, *Xa10*, *xa13*, *Xa23*, *xa25*, *Xa27*, *xa41*) médient la résistance associée aux TALE de l'agent pathogène, et seulement trois (*Xa3/Xa26*, *Xa4* et *Xa21*) codent pour des protéines kinases. *Xa4*, par exemple, est un gène dominant de résistance à la BLB et a été cartographié sur le chromosome 11 en utilisant le marqueur de liaison RM224 (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Récemment, Hu et al. (2017) ont montré que *Xa4* code pour une protéine kinase associée à la paroi cellulaire ("wall-associated kinase" - WAK) (Hu et al. 2017). L'activation de *Xa4* favorise la synthèse de la cellulose, par augmentation de l'expression du gène codant pour la Cellulose synthase A (CesA). Elle empêche aussi le relâchement de la paroi cellulaire inhibant l'expression du gène codant pour des expansines, aboutissant au renforcement de cette dernière. La caractérisation *in vitro* de la protéine XA4 a révélé que son domaine kinase est capable d'autophosphorylation. Par ailleurs, les variétés dans lesquelles a été introgressé *Xa4* ont manifesté une résistance à large spectre et durable, pratiquement à tous les stades végétatifs de la culture. La protéine XA21, quant à elle, a le format classique d'un récepteur kinase, avec un domaine LRR extracellulaire, une région membranaire et un domaine protéique kinase intracellulaire (Ellis and Jones 1998). Ce récepteur reconnaît une protéine sulfatée sur son résidu tyrosine (Y41), nommé RaxX, activant ainsi l'expression de gènes marqueurs des voies de défense, la production de ROS et d'éthylène (Pruitt et al. 2015).

Parmi les neuf gènes qui médient une résistance TALE-dépendante, quatre sont des gènes de type *E* (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*) uniquement induits par les TALE des souches Asiatiques de *Xoo* (Zhu

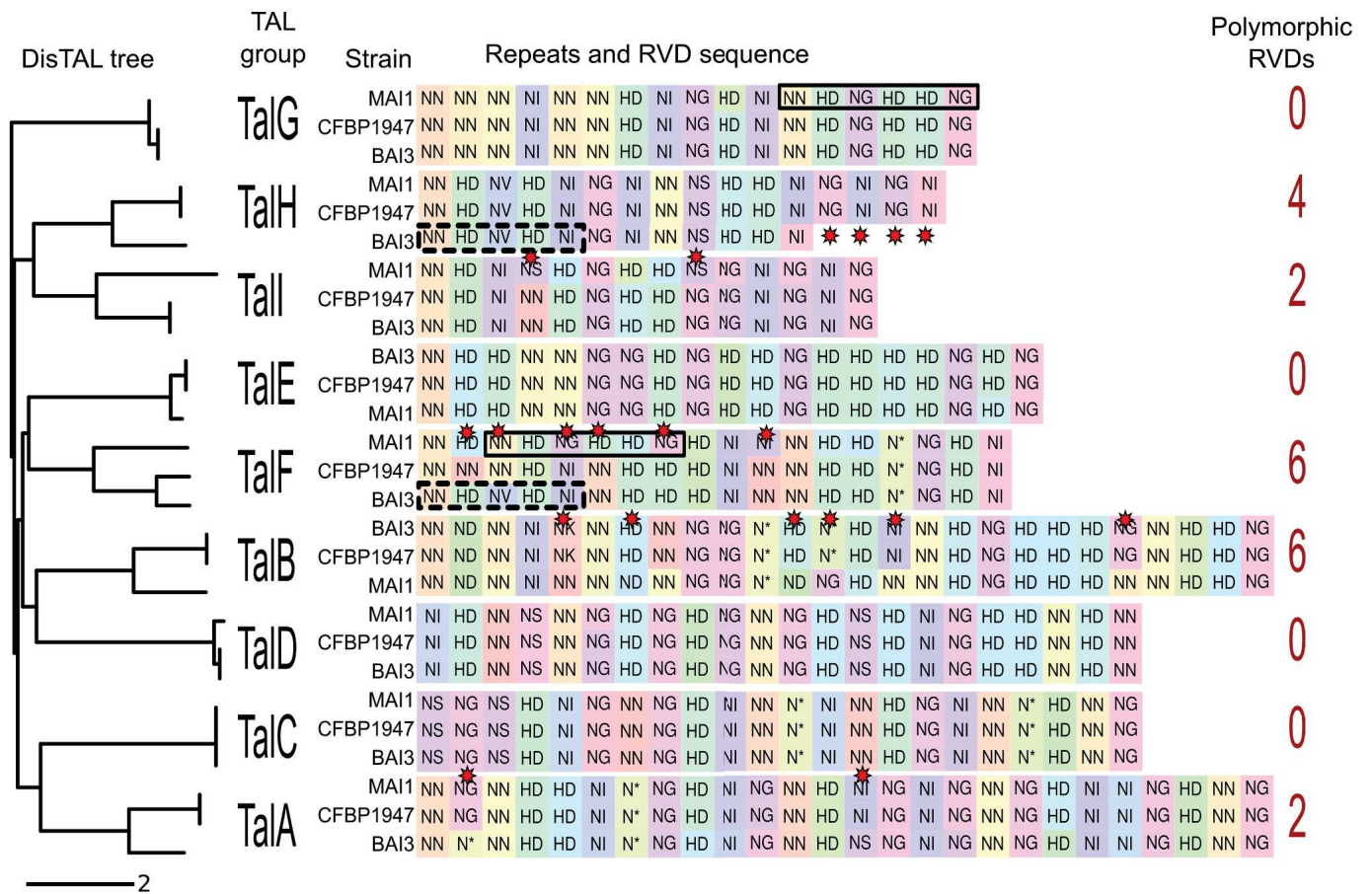


Figure 21. Représentation et alignement des séquences en RVD des TALE des souches Africaines MAI1, BAI3 et CFBP1947 de *Xoo*.

Les alignements en RVD des TALE et variants de chacune des trois souches sont représentés pour chacun des neuf groupes (TalA à TalI). Des couleurs de fond différentes pour un même RVD indiquent que les codons diffèrent. Les étoiles rouges indiquent des polymorphismes de RVD. Les rectangles en trait plein mettent en évidence les répétitions partagées par TalF et TalG de MAI1, ceux en pointillés soulignent ceux qui sont communs à TalF et TalH de BAI3. D'après (Tran et al. 2018).

et al. 1998; Gu et al. 2009; Wang et al. 2014a). Quatre sont des gènes récessifs induisant la résistance par perte de sensibilité (*xa5* (*OsTFIIA γ 5*), *xa13* (*OsSWEET11*), *xa25* (*OsSWEET13*) et *xa41* (*OsSWEET14*) (Römer et al. 2010; Liu et al. 2011c; Hutin et al. 2015b) et un seul est un gène de type NB-LRR (*Xa1*) (Yoshimura et al. 1998; Ji et al. 2016). Le faible nombre de gènes *R* codant pour des NB-LRR dans ce pathosystème est très particulier car les gènes *R* de type NB-LRR sont les principaux acteurs de la résistance à d'autres pathogènes. Par exemple dans le cas de *M. oryzae* avec *Pib* ou encore *Pi-ta*, qui codent pour des protéines NB-LRR reconnaissant respectivement *AvrPib* et *AvrPi-ta* (Liu and Wang 2016).

De manière intrigante, aucun gène *S* qui serait ciblé par les TALE *AvrXa10*, *AvrXa23* et *AvrXa27* des souches Asiatiques de *Xoo* n'a été identifié jusqu'à aujourd'hui. En revanche, *AvrXa7* joue un double rôle dans la sensibilité et la résistance, en induisant à la fois *OsSWEET14* et *Xa7* dans les variétés porteuses de ce dernier (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010). *AvrXa27* et *AvrXa23* sont conservés dans diverses souches de *Xoo* ; par conséquent, *Xa27* et *Xa23* ont été largement appliqués dans les programmes de sélection du riz, et les variétés qui en résultent présentent une résistance à large spectre contre les souches de *Xoo*. Par ailleurs, certains de ces gènes *R* ont été introgressés séparément ou de manière pyramidale chez le riz (Sundaram et al. 2007; Pandey et al. 2012).

Un profilage préliminaire des races de *Xoo* sur les lignées IRBB a rapporté le potentiel de *Xa4*, *xa5* et *Xa7*, ou de gènes co-ségrégant avec ces derniers, pour contrôler quelques *Xoo* Africaines du Burkina Faso, du Niger et du Cameroun, mais le spectre de résistance de ces gènes doit encore être évalué sur un plus grand ensemble de souches (Gonzalez et al. 2007). Il est intéressant de noter qu'une analyse plus récente d'un panel plus large de souches de *Xoo* du Mali a donné une image différente, soulignant que la NIL portant *Xa3* est capable de contrôler six des sept races dans ce pays, ce qui correspond à 89% des isolats testés (Tableau 3). De plus, *Xa1* apparaît comme un des deux gènes *R* les plus prometteur en termes de spectre de résistance pour la population malienne de *Xoo* (Tekete et al. 2020). En raison de la sélection artificielle et naturelle des gènes de résistance à la BLB, les bactéries continuent d'évoluer. Par conséquent, il est nécessaire de caractériser au mieux de nouvelles sources de résistances afin d'anticiper les contournements bactériens futurs.

Gene R	Chromosome	Localisation (kpb)	Position (cM)	Contrôle Xoo	Remarques	Références
<i>Xa1</i>	4	6,697	31 638 099 - 31 644 795	Asie, (Japon, race 1) et Afrique	Dominant, cloné et caractérisé	(Yoshimura et al. 1998)
<i>Xa2</i>	4	-	-	Asie (Japon, race 2A)	Dominant	(He et al. 2006)
<i>Xa3/Xa26</i>	11	3,414	28 399 360 - 28 402 773	Asie (Philippines, races 1, 2, 6)	Dominant, cloné et caractérisé	(Sun et al. 2004; Xiang et al. 2006)
<i>Xa4</i>	11	-	-	Asie (Philippines, race 1)	Dominant, cloné et caractérisé	(Petpisit et al. 1977)
<i>xa5</i>	5	6,261	437 010 - 443 270	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Petpisit et al. 1977)
<i>Xa6/xa3</i>	11	-	-	Asie (Japon)	Dominant	(Sidhu et al. 1978)
<i>Xa7</i>	6	-	-	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Chen et al. 2021; Luo et al. 2021)
<i>Xa8</i>	7	-	-	Asie	Récessif	Singh et al. 2002
<i>Xa9</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Ogawa 1988)
<i>Xa10</i>	11	0,943	22 203 734 - 22 204 676	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Tian et al. 2014)
<i>Xa11</i>	3	-	-	Asie (Japon, races 1B, 2, 3A, et 5)	Dominant	(Goto et al. 2009)
<i>Xa12</i>	4	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa13</i>	8	2,843	26 725 952 - 26 728 794	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa14</i>	4	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa15</i>	-	-	-	Asie	Récessif	Ogawa 1996
<i>Xa16</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa17</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa18</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa19</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa20</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa21</i>	11	3,595	20 802 924 - 20 806 518	Asie (race 6)	Dominant, cloné et caractérisé	(Song et al. 1995)
<i>Xa22(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa23</i>	11	0,943	22 203 734 - 22 204 676	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Wang et al. 2015)
<i>xa24</i>	2	-	-	Asie	Récessif	Khush and Angeles

						1999
<i>xa25(t)</i>	12	3,254	17 302 073 - 17 305 326	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Liu et al. 2011)
<i>xa26(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Lee et al. 2007)
<i>Xa27(t)</i>	6	-	-	Asie	Dominant cloné et caractérisé	(Gu et al. 2005)
<i>xa28(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Lee et al. 2007)
<i>Xa29(t)</i>	1	-	-	Asie	Dominant	(Tan et al. 2004)
<i>Xa30(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Cheema et al. 2008)
<i>xa31(t)</i>	4	-	-	Asie	Récessif	(Wang et al. 2009)
<i>xa32(t)</i>	11	-	-	Asie	Récessif	(Zheng et al. 2009)
<i>Xa33</i>	7	-	-	Asie	Dominant	(Natarajkumar and Mishra 2008)
<i>Xa33(t)</i>	-	-	-	Asie	Dominant	Korinsak et al. 2009
<i>xa34(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Chen et al. 2011)
<i>Xa35(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Guo et al. 2010)
<i>Xa36(t)</i>	-	-	-	Asie	Dominant	Miao et al. 2010
<i>Xa38</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Bhasin et al. 2011)
<i>Xa39</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Zhang et al. 2015)
<i>Xa40(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Kim et al. 2015)
<i>xa41(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif, caractérisé	(Hutin et al. 2015b)
<i>xa42</i>	3	-	-	Asie, (Japon race 1, 2A, 2B, 3, 4 et 5)	Récessif	(Busungu et al. 2018)
<i>Xa43(t)</i>	11	27 560 - 27 990	-	Asie	Dominant	(Kim and Reinke 2019)
<i>xa44(t)</i>	11	28 000 - 28 120	-	Asie	Récessif	(Kim 2018)
<i>Xa45(t)</i>	4	-	-	Asie (Japon race 1) et Afrique	Dominant	(Ji et al. 2020)
<i>Xa46(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Chen et al. 2020)

Tableau 4. Gènes de résistance à *Xoo* (*R* et *E*) connus à ce jour.

Tableau adapté de (Chukwu et al. 2019).

Projet de thèse

Les plantes cultivées sont constamment confrontées à de multiples stress biotiques et abiotiques, représentant 17,2 à 30 % des pertes de rendement. Le riz (*Oryza sativa* L.) est l'une des cultures les plus répandues dans le monde et un aliment de base pour la plupart des populations des pays en développement (Ainsworth 2008). *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* représente depuis plusieurs décennies une menace majeure pour sa production en Asie et en Afrique (Liu et al. 2014). Comprendre les éléments qui déterminent l'interaction entre un pathogène et sa plante hôte est d'une importance cruciale pour le développement de stratégies de résistance durable.

L'élucidation du code régissant l'interaction TALE-ADN (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) a permis de grandes avancées dans notre compréhension des mécanismes de résistance et de sensibilité. La possibilité de prédire les cibles des TALE et leur capacité à induire des gènes cibles en font un atout majeur pour la recherche de sources de résistance (e.g. édition du promoteur de gènes *S*, identification de gènes *E*, etc) et l'amélioration des variétés. Les souches Africaines de *Xoo* diffèrent des souches Asiatiques, entre autres, par la taille de leur TALome et l'induction de résistances qui leur sont spécifiques. A ce jour, quatre gènes de résistance de type exécuteur (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*) induits par des TALE de *Xoo* ont été identifiés chez le riz, mais seules les souches Asiatiques de *Xoo* les induisent. Depuis quelques années des études concernant la caractérisation des sources de résistances chez le riz induites par les TALE de souches Africaines de *Xoo* ont été menés au sein de l'équipe que j'ai intégrée (Thèse M. HUTIN, 2015 ; équipe XPLAIN, UMR PHIM, IRD). Mes travaux de thèses se sont inscrits dans la continuité de ce projet, en poursuivant la caractérisation des quatre TALE d'avirulence candidats, TalF, TalI et, TalH et TalD, identifiés pour induire de la résistance sur les accessions de riz d'*O. sativa* suivantes : FKR47N, CT13432 et IR64, respectivement.

Caractérisation de nouvelles sources de résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

1. Criblage d'une banque de mutants Δtal : confirmation de l'activité d'avirulence d'effecteurs TAL candidats

Le premier chapitre de cette thèse a été dévoué à la caractérisation des effecteurs TAL africains candidats ayant une activité d'avirulence, dans le but de confirmer les résultats précédemment obtenus. Pour disséquer le rôle de chaque TALE, une stratégie de perte-de-fonction consistant à inactiver les gènes *tal* a été mise en place. Les mutants d'intérêt ont ensuite été inoculés sur les

variétés de riz correspondantes pour confirmer le rôle du ou des *tal* dans l'activité d'avirulence des souches Africaines de *Xoo*.

2. Approche de cartographie : identification de QTL de résistance aux souches Africaines chez IR64

Le deuxième chapitre porte sur la caractérisation de la résistance conférée par la variété IR64 contre les souches Africaines de *Xoo*. Pour cela, une approche de cartographie portant sur une population de lignées recombinantes (RIL) composée de 210 lignées de génération F₁₁ (provenant du croisement interspécifique entre IR64 et Azucena) a été utilisée, dans le but d'identifier les QTL de résistance mis en évidence par les souches Africaines de *Xoo*. Par la suite une deuxième population de lignées de génération F_{2:3} a été criblée pour rétrécir les zones QTL identifiées.

3. Identification de gènes exécuteurs candidats via une approche de RNA-seq

Suite aux résultats obtenus, une troisième stratégie, visant à étudier la réponse transcriptomique de la plante lors de l'infection par les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, a été menée sur les variétés de riz IR64 et Nipponbare (dont les génomes sont séquencés et annotés), respectivement résistante et sensible aux souches Africaines de *Xoo*. Au cours des chapitres précédents, l'activité d'avirulence de TalD chez IR64 ayant été démontrée, une comparaison de l'expression différentielle des gènes induits par MAI1 et BAI3 avec le mutant BAI3 Δ *talD* a été effectuée, permettant d'identifier de potentiels gènes *E* candidats expliquant la résistance TalD-dépendante de IR64.

Chapitre 1 : Identification d'effecteurs TAL ayant une activité d'avirulence dans les souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Contexte

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*) est l'agent causal bactériose vasculaire, une maladie dévastatrice du riz. Parmi les effecteurs de type 3 sécrétés par *Xoo* au sein de la cellule végétale, la famille des effecteurs "Transcription Activator-Like" (TALE) joue un rôle essentiel. Certains TALE sont des facteurs de virulence majeurs qui activent les gènes de sensibilité (*S*), dont la surexpression contribue au développement de la maladie. Dans certains cas l'incompatibilité avec l'hôte peut résulter de l'expression de gènes dits exécuteurs (*E*) induits par les TALE, entraînant une réponse de résistance forte et rapide qui bloque le développement de la maladie. Dans ce contexte, le TALE fonctionne comme un facteur d'avirulence (*Avr*). A ce jour, aucun facteur d'avirulence n'a été identifié dans les souches Africaines de *Xoo*. En regard de l'importance des effecteurs TAL dans le pathosystème Riz-*Xoo*, nous avons cherché à identifier ceux qui pourraient agir comme facteur d'avirulence chez des souches de *Xoo* Africaines.

Matériels & Méthodes

Une collection de 86 accessions de riz a été criblée dans le but d'identifier celles spécifiquement résistantes aux souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, et sensible à la souche Asiatique PXO99^A.

Par la suite, une approche de gain de fonction basée sur l'introduction de chacun des neuf gènes *tal* de la souche Africaine avirulente MAI1 dans la souche Asiatique virulente PXO99^A a été entreprise pour identifier des TALE avec une fonction d'avirulence. Une analyse mutationnelle de perte de fonction a ensuite été utilisée pour confirmer les TALE identifiés avec la précédente approche.

Résultats & Conclusions

Parmi les 86 accessions criblées, 12 ont été identifiées comme résistantes aux deux souches Africaines tout en étant sensibles à la souche Asiatique. Grâce aux approches de gain et perte de fonction, quatre TALE candidats ont été identifiés, et l'activité d'avirulence de deux d'entre eux, TalD et TalI, a été démontrée sur les variétés de riz IR64 et CT13432 respectivement. L'analyse des mécanismes qui sous-tendent la résistance de la variété de riz CT13432 a révélé l'existence de deux sources de résistance qui se chevauchent, notamment un allèle apparent du gène de résistance à large spectre *Xa1* et un gène *E* putatif non identifié qui est activé par TalI. En plus de CT13432, parmi les 12 accessions de riz qui étaient résistantes contre les souches de *Xoo* Africaines, 8 ont aussi montré un phénotype de résistance de type *Xa1*.

Perspectives

La combinaison d'analyses de transcriptome et des outils de prédiction de cibles dans le génome de CT13432 pourrait permettre la découverte future de ce gène. Cette approche serait également utile pour déchiffrer quels gènes chez IR64 confèrent une résistance contre les souches Africaines de *Xoo* comportant TalD.

Implication personnelle

Le criblage des 86 accessions avec les souches Africaines et Asiatique de *Xoo*, ainsi que l'approche de gain de fonction ont été réalisés par Mathilde Hutin au cours de sa thèse (2012-2015). Une partie de la collection des souches mutantes BAI3 Δ tal a été criblé par Mathilde H. lors de son post-doctorat, et une autre partie par moi-même au cours de cette thèse. Émilie Thomas a participé à la croissance et à la propagation du matériel végétal. J'ai effectué le reste des expériences.

1 **TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae***

2 Marlène Lachaux¹, Emilie Thomas¹, Adam J. Bogdanove², Boris Szurek^{1*} and Mathilde Hutin^{1*}

3 *Correspondence: boris.szurek@ird.fr; mathilde.hutin@ird.fr

4 ¹Plant Health Institute of Montpellier, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAe, Institut Agro, ,
5 Montpellier, France

6 ²Plant Pathology and Plant Microbe Biology Section, School of Integrative Plant Science, Cornell
7 University, Ithaca, NY, 14853 United States of America

8 **Abstract**

9 **Background:** *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) causes bacterial leaf blight, a devastating
10 disease of rice. Among the type-3 effectors secreted by *Xoo* to support pathogen virulence, the
11 Transcription Activator-Like Effector (TALE) family plays a critical role. Some TALEs are major
12 virulence factors that activate susceptibility (*S*) genes, overexpression of which contributes to
13 disease development. Host incompatibility can result from TALE-induced expression of so-called
14 executor (*E*) genes leading to a strong and rapid resistance response that blocks disease
15 development. In that context, the TALE functions as an avirulence (*Avr*) factor. To date no such
16 avirulence factors have been identified in African strains of *Xoo*.

17 **Results:** With respect to the importance of TALEs in the Rice-*Xoo* pathosystem, we aimed at
18 identifying those that may act as *Avr* factor within African *Xoo*. We screened 86 rice accessions, and
19 identified 12 that were resistant to two African strains while being susceptible to a well-studied
20 Asian strain. In a gain of function approach based on the introduction of each of the nine *tal* genes
21 of the avirulent African strain MAI1 into the virulent Asian strain PXO99^A, four were found to

22 trigger resistance on specific rice accessions. Loss-of-function mutational analysis further
23 demonstrated the *avr* activity of two of them, *talD* and *talI*, on the rice varieties IR64 and CT13432
24 respectively. Further analysis of TalI demonstrated the requirement of its activation domain for
25 triggering resistance in CT13432. Resistance in 9 of the 12 rice accessions that were resistant
26 against African *Xoo* specifically, including CT13432, could be suppressed or largely suppressed by
27 trans-expression of the truncTALE *tal2h*, similarly to resistance conferred by the *Xa1* gene which
28 recognizes TALEs generally independently of their activation domain.

29 **Conclusion:** We identified and characterized TalD and TalI as two African *Xoo* TALEs with
30 avirulence activity on IR64 and CT13432 respectively. Resistance of CT13432 against African *Xoo*
31 results from the combination of two mechanisms, one relying on the TalI-mediated induction of an
32 unknown executor gene and the other on an *Xa1*-like gene or allele.

33 **Keywords:**

34 Rice, bacterial leaf blight, truncTALE/iTALE, germplasm, executor gene, *Xa1*-like resistance

35 **Introduction**

36 Cultivated plants constantly face multiple abiotic and biotic stresses, the latter of which are
37 estimated to cause from 17 to 30% of global yield losses on five of the most important crops
38 including rice (Savary et al. 2019). Rice (*Oryza sativa L.*) is one of the most widely cultivated crops
39 around the world and a staple food for much of the developing world (Ainsworth 2008). A major
40 threat to rice production in Asia and Africa is bacterial leaf blight (BLB) caused by the bacterial
41 phytopathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*). BLB may indeed cause up to 50% of yield
42 loss depending on rice variety, growth stage of infection, geographic location and environmental
43 conditions (Liu et al. 2014). *Xoo* enters leaves through hydathodes or wounds. Bacteria then
44 multiply in the intercellular spaces of the underlying epitheme prior to reaching the xylem vessels
45 and propagating into the plant. BLB symptoms are water-soaked lesions that spread following the
46 bacteria's progression down the leaf and become chlorotic and then necrotic (Niño-Liu et al. 2006).

47 As do many pathogenic gram-negative bacteria, *Xoo* uses a type-3 secretion system (T3SS) to
48 secrete into the host cytoplasm a cocktail of type-3 effectors (T3E) that can be classified as
49 transcription activator-like (TAL) effectors and non-TAL effectors. While the latter include a
50 diverse array of effector families with various molecular activities, members of the TAL effector
51 (TALE) family function as eukaryotic transcription factors that bind in a sequence-specific manner
52 to the promoters of target genes in the host cells. Repeat-variable diresidues (RVDs) located at
53 positions 12th and 13th of each of several contiguous repeats in a central domain of TALEs
54 determine the DNA sequence binding specificity of the protein, one repeat to one nucleotide (Boch
55 et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). The target sequence, unique to each TALE, is called the
56 effector binding element (EBE). Some *Xoo* TALEs are major virulence factors, targeting
57 susceptibility (*S*) genes. Upregulation of *S* genes by TALEs contributes to disease development. *S*
58 genes characterized to date for BLB mainly encode clade-3 *SWEET* sugar uniporters that may
59 increase the abundance of apoplastic sugar to the benefit of the pathogen, or transcription factors

60 that regulate so far unknown secondary targets promoting host susceptibility (Garcia-Ruiz et al.
61 2021).

62 Forty-six genes, several dominant and some recessive, individually govern rice resistance against
63 *Xoo*. Twelve have been cloned and nine are TALE-dependent, reflecting the crucial role of TALEs
64 in the interaction (Jiang et al. 2020). Recessive resistance often involves mutations within the EBE
65 of an *S* gene to prevent the TALE-DNA interaction and consequent *S* gene induction. This is well
66 illustrated by the non-TALE-inducible *xa13*, *xa25* and *xa41* loss-of-susceptibility alleles of the
67 major *S* genes *OsSWEET11*, *OsSWEET13*, and *OsSWEET14*, respectively (Chu et al. 2006; Liu et
68 al. 2011; Hutin et al. 2015). Dominant resistance is often triggered by TALE-mediated induction of
69 so-called executor (*E*) genes, expression of which leads to rapid plant cell death that blocks disease
70 development (Boch et al. 2014). Four *E* genes, namely *Xa7*, *Xa10*, *Xa23*, *Xa27*, and their respective
71 matching *tal* genes, *avrXa7*, *avrXa10*, *avrXa23*, *avrXa27*, have been cloned and characterized
72 (Hopkins et al. 1992; Gu et al. 2005; Tian et al. 2014; Wang et al. 2014, 2015; Chen et al. 2021;
73 Luo et al. 2021). These *tal* genes are only present in Asian strains of *Xoo* and no *E* genes induced by
74 African *Xoo* TALEs have been identified to date. *E* genes so far code for small proteins with
75 transmembrane domains, and the molecular mechanisms underlying their function are still far from
76 being understood (Zhang et al. 2015; Chen et al. 2021). Another type of dominant resistance is
77 conferred by receptor-like kinases (RLK), such as *Xa3/Xa26* (Sun et al. 2004; Xiang et al.
78 2006) and *Xa21* (Song et al. 1995), but also *Xa4* which encodes a cell wall-associated kinase (Hu et
79 al. 2017). Finally, the last category are genes encoding nucleotide-binding domain leucine-rich
80 repeat containing receptors (NLR) such as *Xa1* and its apparent alleles *Xo1*, *Xa2*, *Xa14*, *Xa31(t)* and
81 *Xa45(t)* (Ji et al. 2020; Read et al. 2020; Zhang et al. 2020). We consider the latter genes “apparent”
82 alleles because *Xo1* resides in a cluster of NLR genes, the number of which varies among rice
83 genotypes, making orthology uncertain. *Xa1* and *Xo1* were shown to mediate resistance in response
84 to TALEs generally, independently of their specific RVD sequence, and with no requirement for the

85 transcriptional activation domain (Ji et al. 2016; Triplett et al. 2016; Read et al. 2020). A variant
86 class of TALEs called interfering (iTALE) or truncated (truncTALE) TALEs suppress *Xa1/Xo1*-
87 mediated resistance, and the truncTALE Tal2h has been demonstrated to interact with Xo1 (Ji et al.
88 2016; Read et al. 2016, 2020). Whether this interaction is direct, and whether Xo1 interacts with
89 TALEs to mediate resistance remains to be elucidated. Analysis of functional apparent alleles of
90 *Xa1* and *Xo1* highlight the absence of an intervening motif present in non-functional alleles, and
91 differences in the number (4 to 7) of central tandem repeats that might explain differences in their
92 activity (Zhang et al. 2020). Interestingly, most Asian strains of *Xoo* harbor iTALEs/truncTALEs
93 while African strains do not, explaining why African strains are widely controlled by *Xa1*, *Xo1* or
94 functional homologs (Ji et al. 2016; Read et al. 2016, 2020).

95 Previous studies demonstrated that African *Xoo* are genetically distant from Asian *Xoo* and closer to
96 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) (Poulin et al. 2015), which causes bacterial leaf streak
97 (BLS). A characteristic feature of African *Xoo* is their small TALome (set of *tal* genes) consisting
98 of 8-9 genes, relative to Asian *Xoo* which carry up to 19 *tal* genes. Moreover, no TALE is
99 conserved between Asian and African strains (Lang et al. 2019). Comparative analysis of the
100 TALome of several African strains revealed six groups of polymorphic TALEs based on their RVD
101 sequences, including TalA, TalB, TalD, TalF, TalH, and TalI (Doucouré et al. 2018; Tran et al.
102 2018). African *Xoo* are also distinguished by a reduced number of races as compared to Asian *Xoo*
103 (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020). Race profiling on near isogenic lines (NILs) reported the
104 potential of *Xa4*, *xa5* and *Xa7* or co-segregating genes to control a few African *Xoo* from Burkina
105 Faso, Niger, and Cameroon (Gonzalez et al. 2007), but the resistance spectrum of these genes has
106 yet to be evaluated on a larger set of strains. Furthermore, *Xa1* comes up as one of the most
107 promising *R* genes in terms of resistance spectrum for the Malian *Xoo* population (Tekete et al.
108 2020). Other studies to identify resistance against African *Xoo* evaluated 107 accessions of *O.*
109 *glaberrima*, the cultivated rice species domesticated in Africa, as well as improved varieties

110 including NERICA (NEw RICE for Africa) (Djedatin et al. 2011; Wonni et al. 2016). NERICA
111 varieties are often the result of the inter-specific crosses between *O. glaberrima*, which represents
112 important germplasm for resistance to local biotic and abiotic stresses, and high-yielding Asian *O.*
113 *sativa*. These studies identified 25 accessions of *O. glaberrima* that are resistant to one or more
114 African strains of *Xoo*, and five Burkinabe elite rice varieties (Djedatin et al. 2011; Wonni et al.
115 2016). Genes or quantitative trait loci accounting for resistance in these varieties remain to be
116 explored.

117 In this study, toward providing breeders with new resistance genes against African *Xoo*, we
118 screened 86 rice accessions including 16 accessions tested previously (Djedatin et al. 2011; Wonni
119 et al. 2016) for resistance to two reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively
120 originating from Mali and Burkina Faso. We included the Asian strain PXO99^A for comparison. For
121 select accessions, we probed with individual TALEs from the African strains expressed in PXO99^A
122 to identify potential *E* or other TALE-dependent resistance genes. We report on the identification of
123 12 accessions showing resistance to both African strains, nine of which involving an *Xa1*-like
124 immunity, and unveil two TALEs with avirulence activity in African *Xoo*. Interestingly, our
125 approach unmasked the occurrence of two overlapping TALE-mediated sources of resistance in the
126 rice variety CT13432, one involving *Xa1*-like activity and the other a so far unknown TALE-
127 dependent *E* gene.

Name	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99 ^A °	*Candidate avirulence TALEs
Og_107	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S	-
Og_162	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S	-
WAB56-50	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
WAB181-18	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
FKR19	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
FKR43	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
IR64	<i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>	R	MR	S	TalD, TalH
CT13432	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	TalI
Gigante	<i>O. sativa</i>	R	R	S	-
FKR45N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	-
FKR47N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	TalF
FKR49N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	-

Table 1. Four African TALEs mediate resistance when expressed in PXO99^A on resistant varieties.

°Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after inoculation.

Resistant (R), $x < 5$ cm; moderately resistant (MR), $5 \text{ cm} < x < 10$ cm; moderately susceptible (MS), $10 \text{ cm} < x < 15$ cm; susceptible (S), $x > 15$ cm.

*Rice accessions were inoculated with PXO99^A carrying each of the nine *tal* genes of MAI1. (-) means no candidate avirulence TALE identified.

128 **Results**

129 **Germplasm screening for TALE-dependent resistance against African *Xoo* uncovers three** 130 **resistant rice varieties**

131 To search for African *Xoo* *tales* with *avr* activity, we established a gain-of-function approach
132 consisting in the trans-expression of these *tal* genes in a virulent recipient strain of *Xoo*. We first
133 screened a germplasm of 86 accessions of rice and selected those that were susceptible to the Asian
134 *Xoo* strain PXO99^A and resistant to the reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3. Twelve
135 accessions exhibited that phenotype, including two *O. glaberrima*, seven *O. sativa* (two *indica* and
136 one *japonica*), and three elite varieties that are popular in West-Africa (Table S1). To investigate
137 whether the resistance of these 12 accessions to African *Xoo* is triggered by TALEs, each of the
138 nine *tal* genes of the *Xoo* strain MAI1 was introduced into the virulent strain PXO99^A. The
139 expression in PXO99^A of each TALE was confirmed by Western blot (Fig. S1). Each PXO99^A
140 transformant carrying an *Xoo* MAI1 *tal* gene was inoculated to the 12 accessions and to the rice
141 variety Azucena, which was used as susceptible check. No significant difference in lesion lengths
142 was observed upon leaf-clip inoculation of Azucena leaves with the different transformants 15 days
143 after inoculation. In contrast, the varieties CT13432 and FKR47N exhibited resistance when
144 inoculated with PXO99^A transformants carrying *talI* and *talF*, respectively. In addition, PXO99^A
145 strains with *talD* or *talH* both elicited resistance when inoculated to the *O. sativa* ssp. *indica* variety
146 IR64. Overall, four TALEs with avirulence activity and three rice accessions with TAL-dependent
147 resistance were pinpointed through this gain-of-function strategy (Table 1).

148 ***tal* genes mutagenesis confirms *talD* avirulence activity in IR64**

149 To confirm that *talD*, *talH*, *talI* and *talF* act as avirulence genes in strain MAI1, we attempted to
150 generate a library of MAI1 *tal* gene mutants by transformation of the suicide plasmid pSM7 as
151 reported previously (Cernadas et al. 2014; Tran et al. 2018). Because MAI1 turned out to be poorly
152 amenable to genetic transformation, we focused on the *Xoo* strain BAI3, which has a similar

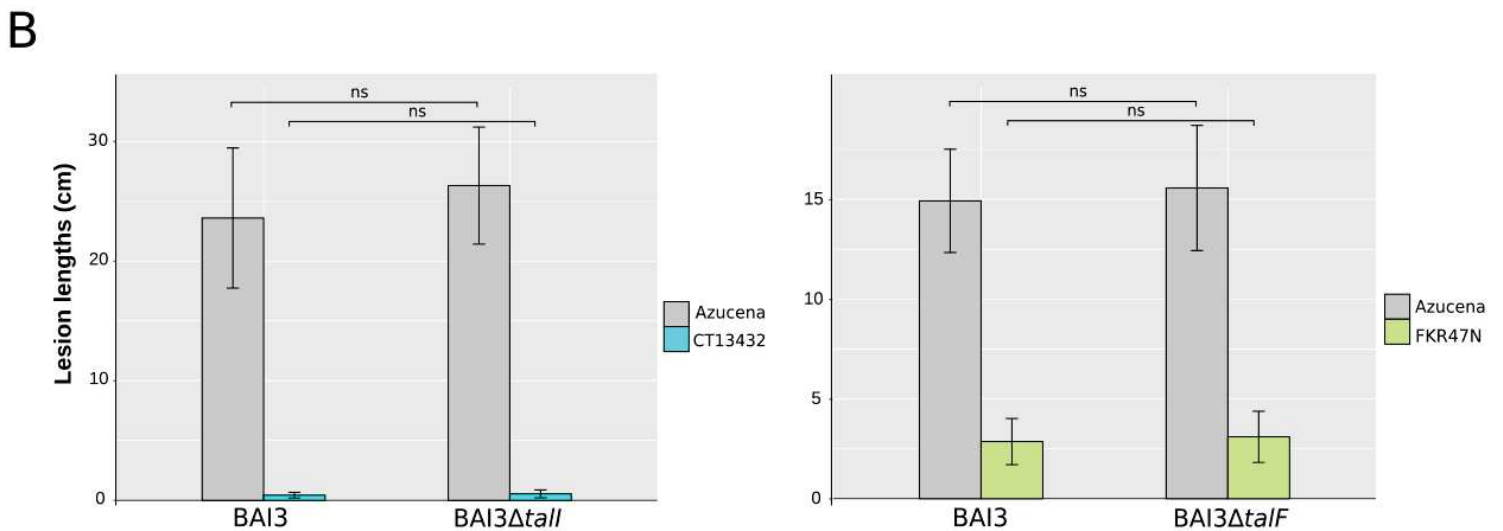
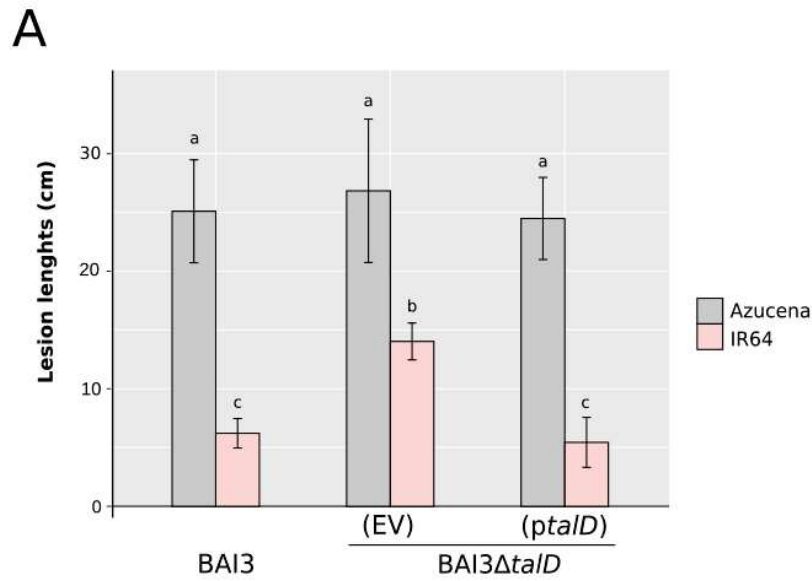


Figure 1. *BAI3ΔtalD* loses avirulence on IR64 but *BAI3ΔtalI* and *BAI3ΔtalF* do not on CT13432 and FKR47N.

(A) Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and BAI3ΔtalD carrying an empty vector (EV) or a plasmid with *talD* (*ptaID*). To assess significance, the parametric test ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different. (B) Leaves of rice varieties CT13432, and FKR47N were clip-inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 and with mutant strains BAI3ΔtalI and BAI3ΔtalF, respectively. Azucena was included for all strains as a susceptible check. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm SD. Significant differences ($p < 0.001$) were determined using an unpaired two-sample t-test; bars with « ns » are not statistically different. Experiments were repeated three times with similar results.

153 TALome (Tran et al. 2018). We obtained at least one mutant strain with a single insertion for each
154 *tal* gene, except for *talH* (Fig. S2). Alongside wild-type (WT) BAI3, mutant strains BAI3 Δ *talI*,
155 BAI3 Δ *talF* and BAI3 Δ *talD* were inoculated to CT13432, FKR47N and IR64, respectively, and to
156 the Azucena susceptible control. Both leaf-clip inoculation and leaf-infiltration of the three
157 BAI3 Δ *tal* mutants produced WT-like symptoms on Azucena, indicating that virulence of these
158 mutant strains was not affected (Fig. 1; Fig. S3). In contrast, an increase of lesion lengths was
159 observed upon clip-inoculation of leaves of IR64 with BAI3 Δ *talD*. Avirulence was fully restored
160 when a plasmid-borne copy of *talD* was introduced into BAI3 Δ *talD* (Fig. 1A), demonstrating the
161 avirulence activity of *talD* in IR64. In contrast, no loss of resistance was observed upon leaf-
162 infiltration or leaf-clipping of CT13432 and FKR47N with *talI* or *talF* mutant strains, respectively
163 (Fig. S3, Fig. 1B), leading to the hypothesis that one or more other *avr* activities, corresponding to
164 one or more other *R* genes, may be masking those of *talI* and *talF*.

165 **CT13432 and FKR47N exhibit *Xa1*-like resistance**

166 When leaves of CT13432 and FKR47N were infiltrated with BAI3, an early and strong
167 hypersensitive response (HR) apparent as rapidly developing necrosis could be observed at the site
168 of inoculation (Fig. S3). *Xa1/Xo1* being able to confer resistance against African strains of *Xoo* and
169 *Xoc* specifically (Ji et al. 2016; Triplett et al. 2016), and among the *Xa* genes that trigger an early
170 and strong HR-like phenotype upon *Xoo* leaf-infiltration, we hypothesized that some *Xa1/Xo1*-like
171 mechanism may be at play in the BAI3-CT13432/FKR47N interactions, redundant to the *talI* and
172 *talF*-specific resistances observed in the gain-of-function experiments. To test this hypothesis we
173 infiltrated the Asian *Xoc* strain BLS256 which carries the truncTALE *tal2h*, and the derivative
174 mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, into leaves of CT13432, FKR47N and the susceptible control
175 Azucena (Fig. 2). As expected, all strains promoted water-soaking symptoms upon infiltration of
176 the susceptible variety Azucena. Typical BLS symptoms were observed when leaves of CT13432
177 and FKR47N were infiltrated with *Xoc* strain BLS256, while a strong resistance phenotype

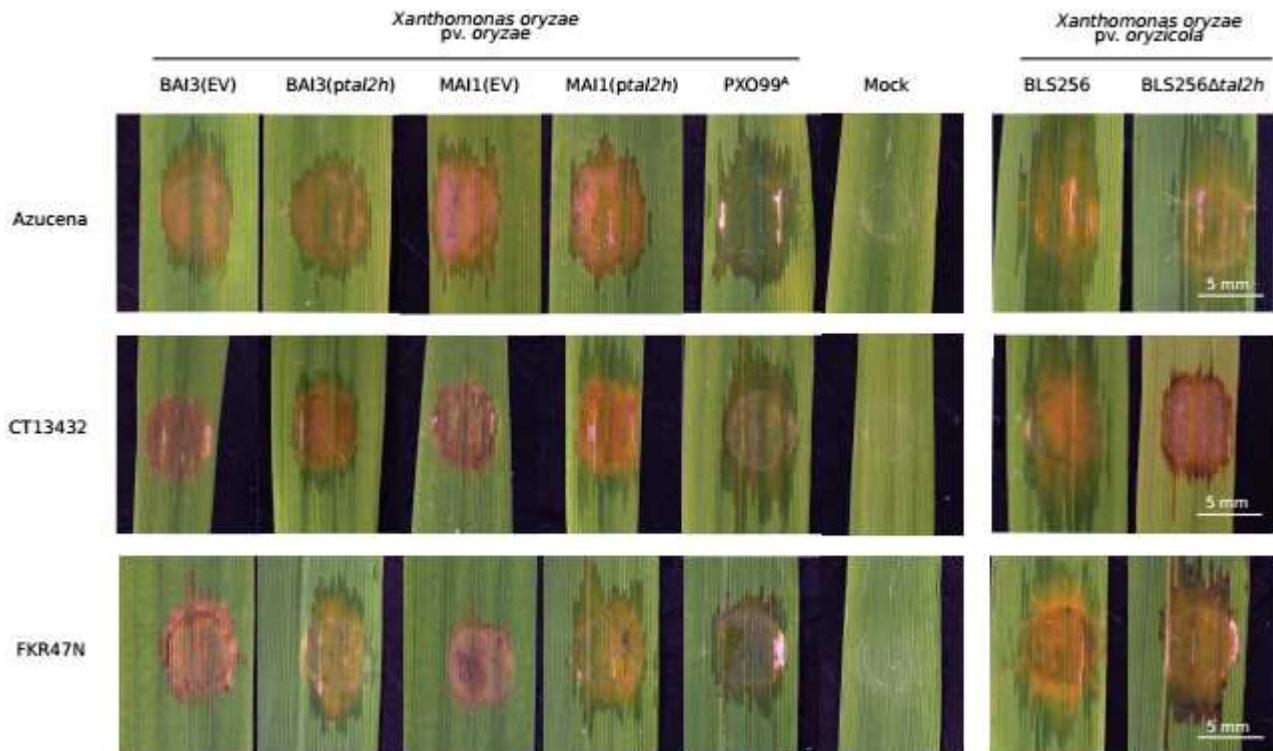


Figure 2. The resistance of CT13432 and FKR47N against African *Xoo* is largely suppressed by a truncTALE.

Leaves of CT13432 and FKR47N rice varieties were inoculated with *Xoo* strains BAI3 and MAI1 carrying an empty vector (EV) or the truncTALE *tal2h* as well as *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) strain BLS256 which is naturally carrying *tal2h* and the mutant strain BLS256Δ*tal2h*. The susceptible rice variety Azucena and the Asian *Xoo* strain PXO99^A were used as controls. Leaves were photographed at 5 dpi.

178 appeared upon infiltration of the truncTALE derivative mutant BLS256 Δ *tal2h*, indicating that
179 CT13432 and FKR47N have *Xa1/Xo1*-like activity. To further confirm that the resistance of these
180 varieties against *Xoo* strains BAI3 and MAI1 is conferred in part by an *Xa1*-like gene, both strains
181 were transformed with *tal2h* and pathogenicity assays were performed. As expected, expression of
182 the truncTALE in BAI3 and MAI1 resulted in a complete loss of HR on CT13432 and FKR47N,
183 which was not the case when the strains carried an empty vector (Fig. 2). Altogether, our results
184 suggest that African *Xoo* resistance in CT13432 and FKR47N is mediated by *Xa1* or other alleles,
185 in addition to as yet unidentified resistance genes corresponding to *talI* and *talF*.

186 To test whether any of the ten remaining resistant accessions involve similar mechanisms, 3-week-
187 old plants were inoculated by infiltration and checked for appearance of the HR. As expected,
188 Carolina Gold Select and IRBB1, carrying respectively *Xo1* and *Xa1*, displayed water-soaking
189 lesions when infiltrated with the Asian *Xoc* strain BLS256, and HR when infiltrated with the
190 African *Xoo* strain BAI3 and the truncTALE derivative mutant BLS256 Δ *tal2h* (Fig. S4).
191 Surprisingly, seven out of the eight *O. sativa* spp. accessions also exhibited a typical *Xa1*-like HR to
192 BAI3 and BLS256 Δ *tal2h* while being susceptible to BLS256 (and to PXO99^A, which also carries
193 iTALEs). The two *O. glaberrima* accessions exhibited no *Xa1*-like resistance, developing water-
194 soaking in response to BAI3 or BLS256 Δ *tal2h* following leaf infiltration (Fig. S4, Table S2).
195 Overall, these observations show that 9 of the 12 resistant varieties including CT13432 and
196 FKR47N resist African *Xoo* through *Xa1/Xo1*-like mechanisms.

197 **Presence of *Xa1* allelic *R* genes in CT13432 and FKR47N rice varieties**

198 To test the prediction that an *Xa1* allele was present in CT13432 and FKR47N, we PCR-amplified a
199 202 bp fragment spanning the junction of the first repeat and its up-stream region (Ji et al. 2020);
200 Table S3), allowing the discrimination of resistant and susceptible alleles (susceptible alleles yield
201 no product). Analysis was performed also on the *Xa1*-carrying near-isogenic line IRBB1 and the

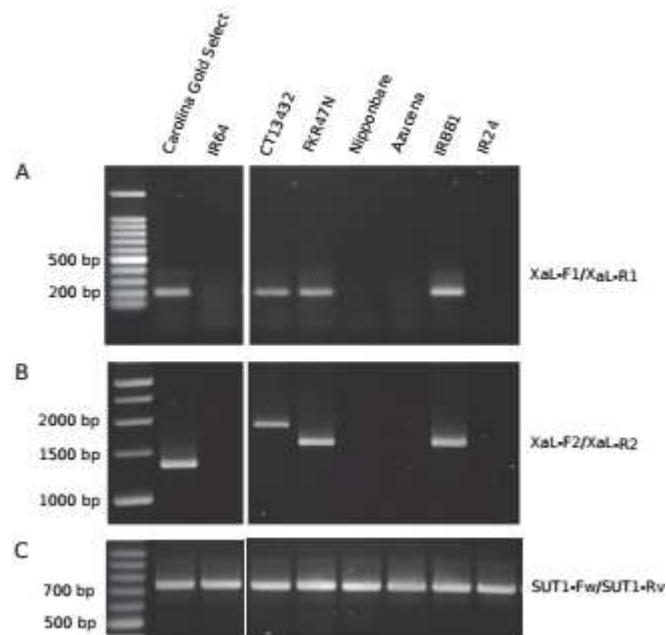


Figure 3. The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of *Xa1*.

The genomic DNA of rice varieties Carolina Gold Select, IR64, CT13432, FKR47N, Nipponbare, Azucena, IRBB1 and IR24 were used as a template for PCR amplification of (A) the junction of the first repeat of 279 base pairs of *Xa1* and its upstream region, (B) the whole repeat region of *Xa1* and alleles, and (C) the housekeeping gene *OsSUT1* used as a control. All the samples were run on the same gel.

202 *Xo1*-carrying Carolina Gold Select rice variety as positive controls, and on Azucena, Nipponbare,
203 IR24 and IR64 as negative controls (Fig. S4). Both CT13432 and FKR47N yielded a product that
204 co-migrated with those of the positive controls (Fig. 3A). No amplification was evident from the
205 negative control varieties. We next tried to determine the number of leucine-rich repeats (LRRs)
206 encoded by the CT13432 and FKR47N alleles by amplifying the LRR domain. As expected, IRBB1
207 and Carolina Gold yielded products of sizes consistent with the six and five LRRs of *Xa1* and *Xo1*,
208 respectively. CT13432 and FKR47N produced amplicons of sizes consistent with the presence of
209 seven and six LRRs, respectively (Fig. 3B). Altogether, these results provide strong evidence that
210 CT13432 and FKR47N varieties each carry a different allele of the *Xa1 R* gene that is active against
211 African *Xoo* strains MAI1 and BAI3.

212 **Suppression of the *Xa1*-like resistance in CT13432 unmasks an underlying *TalI* activation** 213 **domain-dependent resistance**

214 We hypothesized that the *Xa1*-like resistance in CT13432 and FKR47N explains the failure of the
215 *talI* and *talF* knockouts in BAI3 to abolish avirulence of the mutants, respectively, on these
216 varieties (Fig. 1A). To test this hypothesis directly, we first introduced a plasmid-borne copy of
217 *tal2h* into BAI3 and inoculated to CT13432 and the susceptible variety Azucena. The presence of
218 *tal2h* indeed suppressed the *Xa1*-like resistance to BAI3 in CT13432, resulting in moderate disease
219 symptoms development (Fig. 4A), and higher bacterial titers *in planta* (Fig. 4B) as compared with a
220 BAI3 empty vector control. We next tested whether the combination of *tal2h*-mediated *Xa1*-like
221 suppression and *talI* inactivation would lead to even higher virulence on CT13432 by introducing
222 *tal2h* (or the empty vector) into BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*). No significant differences in lesion lengths or
223 bacterial populations were observed between BAI3(*ptal2h*) and BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*)(EV). However,
224 expression of *talI*_{BAI3} in trans in BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*) dramatically reduced lesion lengths and bacterial
225 titer *in planta*, relative to the empty vector in BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*). These results demonstrate that
226 *talI*_{BAI3} *avr* activity in CT13432 can be detected when *Xa1* is inactivated. We next evaluated if

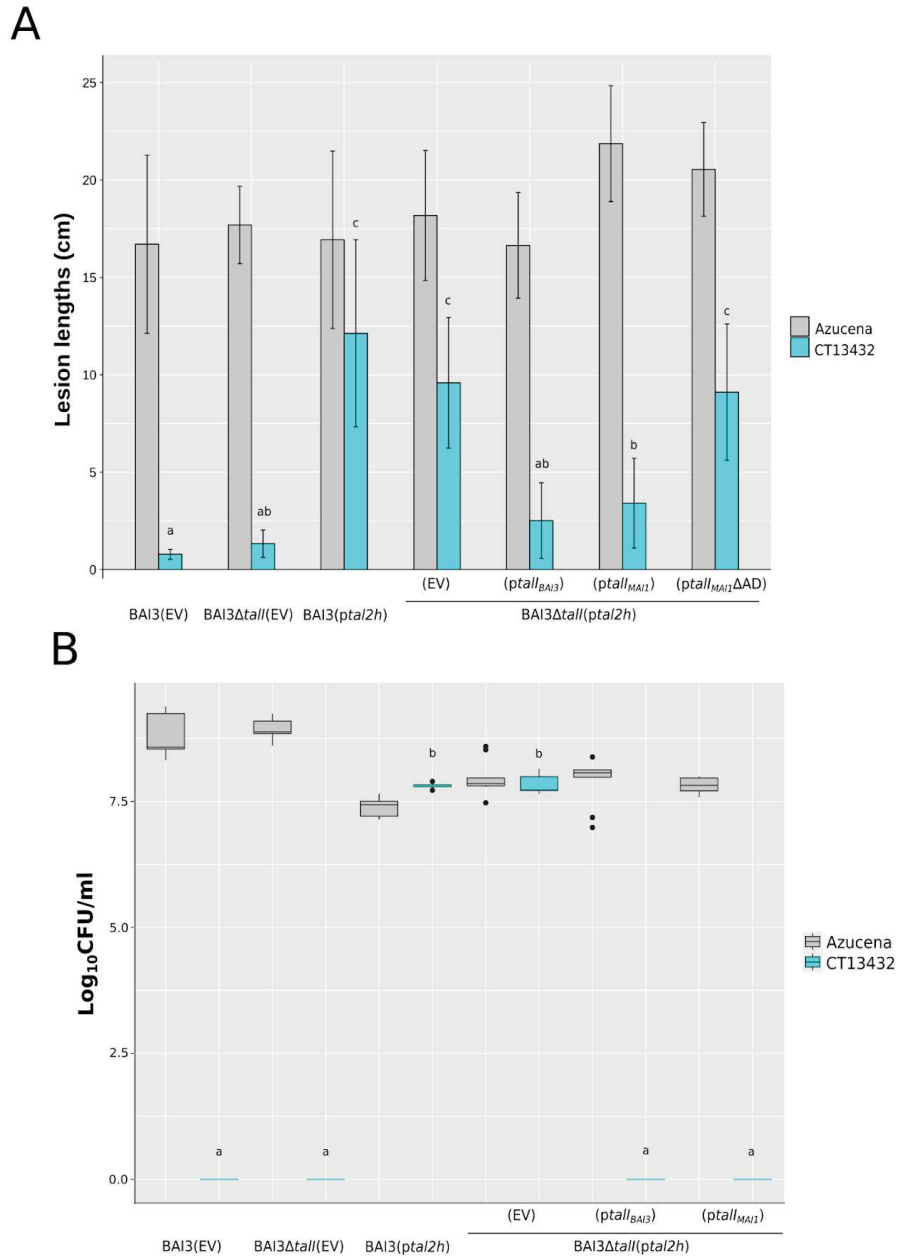


Figure 4. Suppression of Xa1-like resistance unmasks *TalI* avirulence activity in the rice variety CT13432. (A) Leaves of CT13432 and Azucena plants were clip-inoculated with the *Xoo* strain BAI3 carrying the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3Δ*talI* mutant carrying the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3 strain expressing the *tal2h* truncTALE, and BAI3Δ*talI* expressing *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3}, *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1}ΔAD. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. (B) Bacterial counts were taken 7 dpi of rice leaves of CT13432 and Azucena inoculated with the same panel of *Xoo* strains used in (A). Statistical tests in both experiments were carried out in R using the nonparametric Kruskal-Wallis and Dunn's tests ($\alpha = 0.05$). Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different.

227 restoration of avirulence could also be obtained upon expression of *talI_{MAI1}* which is polymorphic at
228 RVDs 4 and 9 (Tran et al. 2018). As with *talI_{BAI3}*, expression of *talI_{MAI1}* lead to reduced lesion
229 lengths and *in planta* bacterial amounts, indicating that both *talI* variants confer avirulence on
230 CT13432 (Fig. 4). We next evaluated the requirement of the activation domain (AD) in the *talI*-
231 specific resistance. BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*) transformed with the deletion derivative construct
232 *ptalI_{MAI1}* Δ AD failed to trigger resistance in CT13432 while it remained fully virulent on the
233 susceptible variety Azucena (Fig. 4A). Western-blot analysis verified that TalI_{MAI1} and TalI_{MAI1} Δ AD
234 accumulate at comparable levels (Fig. S5). Altogether our results show that the TalI specifically
235 elicits a form of resistance distinct from the Xa1-like resistance in CT13432 and that this elicitation
236 relies on the activation domain of TalI, suggesting the presence of a TalI-activated *E* gene. Further
237 analysis will be necessary to elucidate whether the same is true for *talF*-mediated resistance in
238 FKR47N.

239 Discussion

240 First identified in Japan in 1884, BLB has been long recognized as a major threat in many Asian
241 countries, and therefore for decades at the heart of many research and resistance breeding programs
242 (Liu et al. 2014). To date, a handful of avirulence genes have been cloned from Asian *Xoo* strains,
243 all of which encode TAL effectors including *avrXa7*, *avrXa10*, *avrXa23*, and *avrXa27* (Hopkins et
244 al. 1992; Gu et al. 2005; Wang et al. 2014). In contrast, no avirulence gene has been identified in
245 African *Xoo* strains, the first of which were isolated in the 1980s. However, as many as nine races
246 of African strains, not found among Asian strains, have been reported so far (Gonzalez et al. 2007;
247 Tekete et al. 2020), indicating that some effector genes of African *Xoo* strains act as avirulence
248 factors in gene-for-gene interactions with some rice *R* genes. Comparison between African and
249 Asian *Xoo* TALomes shows that no *tal* gene is conserved between these two *Xoo* lineages (Lang et
250 al. 2019). Strains of both lineages induce the *S* genes *OsSWEET14* and *OsTFX1* through unrelated
251 TALEs, highlighting cases of inter-lineage evolutionary convergence of virulence functions

252 (Streubel et al. 2013; Tran et al. 2018). In contrast, none of the rice *E* genes induced by Asian *Xoo*
253 is predicted to be targeted by any African *Xoo* TALE. Here, toward identifying sources of resistance
254 effective against African *Xoo* strains, we assessed the putative *avr* activity of 12 previously cloned
255 individual *tal* genes representing the TALome of two African *Xoo* strains (Tran et al. 2018), using a
256 large set of rice accessions.

257 To accomplish this goal, we first took a gain-of-function approach using the virulent Asian *Xoo*
258 strain PXO99^A as a recipient to express cloned African *tal* genes. In a similar approach, we
259 previously identified major virulence TALEs of African *Xoo* strains using the US strain *Xo* X11-5A
260 as recipient (Tran et al. 2018). X11-5A lacks *tal* genes and is weakly virulent, allowing for gain-of-
261 virulence screening (Ryba-White et al. 1995; Triplett et al. 2011). Nonetheless in a search for gain-
262 of-avirulence, the use of a more virulent strain is required. By selecting the Asian strain PXO99^A as
263 recipient, we also minimized the risk of TALE functional redundancy. This strategy led to the
264 identification of *talI* and *talF* respectively causing resistance in rice varieties CT13432 and
265 FKR47N, as well as *talD* and *talH*, each triggering resistance on IR64.

266 In a complementary approach, a loss-of-function analysis was carried out by mutagenizing
267 individual *tal* genes in the African *Xoo* strain BAI3. This analysis validated *talD* and *talI* as
268 avirulence genes; a mutant for *talH* was not obtained. Because IR64 has been sequenced and
269 recombinant populations are available, (Fragoso et al. 2017) prospects for future identification of
270 the gene(s) underlying the TalD-elicited resistance are good. Mutagenesis of *talI* or *talF* failed to
271 cause a measurable loss of avirulence in the respective rice varieties CT13432 and FKR47N.
272 However, *talI* avirulence activity was evident upon trans-expression of the truncTALE *tal2h* in
273 BAI3 Δ *talI*, revealing that a resistance like that mediated by Xa1, in response to TALEs generally
274 and suppressed by truncTALEs, is present in CT13432 and masking the TalI-specific resistance. By
275 further taking advantage of this combined gain- and loss-of-function approach, we also determined

276 that the TalI-specific resistance depends on the activation domain of the effector and thus likely
277 involves an *E* gene.

278 While four TALE groups including TalG, TalE, TalD and TalC are strictly conserved between *Xoo*
279 strains MAI1 and BAI3, two to six RVD variations were reported in the five other groups,
280 modifying to some extent their DNA binding sequence specificities (Tran et al. 2018). Notably,
281 three of the four candidate or validated avirulence TALEs identified in this study, TalI, TalF, and
282 TalH all present RVD polymorphisms across Malian and Burkinabe strains, which could be the
283 result of some ongoing selection pressure imposed by corresponding *E* or other resistance genes
284 (Doucouré et al. 2018; Schandry et al. 2018). Surprisingly, the TalD group is much more conserved,
285 highlighted by an absolute RVD conservation between BAI3, MAI1 and the Cameroonian strain
286 CFBP1947 (Tran et al. 2018), and only one polymorphic RVD among nine Malian strains
287 investigated (Doucouré et al. 2018). According to the EBE prediction tools Target Finder and Talvez
288 (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), 90% of the first 20 predicted targets of the two
289 versions of TalD are conserved. Such a conservation among strains hints to an important role in
290 virulence for TalD, but there are no data supporting this hypothesis so far. Concerning the TalI
291 group, BAI3 and MAI1 alleles differ at two RVDs and share about 32% of their predicted targets,
292 querying the Nipponbare genome. Since both variants equally elicit resistance in the rice variety
293 CT13432, their polymorphism may confer an advantage in future identification of the putative
294 corresponding *E* gene; the gene is likely to reside among the relatively smaller number of predicted
295 targets in that genome that are shared by the two alleles.

296 Up to now 12 *R* genes against BLB have been cloned, of which 9 are triggered by TALEs (Jiang et
297 al. 2020; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). This proportion not only highlights the crucial role of
298 this effector family in the rice-*Xoo* pathosystem but also the relevance of using TALEs as probes to
299 identify resistance sources and clone the underlying genes. This quest is facilitated by the ability to

300 identify candidate targets of TALEs by combining EBE prediction and expression analysis, owing
301 to the modular nature of TALE DNA interactions and their strong transcriptional upregulation of
302 targets (Boch et al. 2014). In a proof-of-concept study pioneering this strategy for *E* gene
303 identification, Strauss et al (2012) identified the pepper *Bs4C* gene, which is specifically induced by
304 the TALE AvrBs4 from *X. euvesicatoria*. More recently, a mix of map-based cloning and EBE
305 predictions led to the isolation of the *E* gene *Xa7* in rice, which is triggered by the *Xoo* TALE
306 AvrXa7 (Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). In our study, out of the 86 accessions phenotyped, 12
307 were found to be resistant to both African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, including 7 accessions of *O.*
308 *sativa*, 2 of *O. glaberrima* and 3 NERICAs. Moreover, 12 *O. glaberrima*, 3 *O. sativa*, 3 *O. barthii*
309 and 2 NERICA accessions were discovered to be resistant specifically to the Malian strain MAI1.

310 Among the 12 accessions identified as resistant to *Xoo* African strains MAI1 and BAI3, 9
311 accessions, including CT13432 and FKR47N, showed a phenotype typical of *Xa1* resistance (Table
312 S2; Fig. S4). This is not surprising since *Xa1* and its functional homologs exhibit broad-spectrum
313 resistance against African *Xoo* specifically, owing to the lack of iTALEs in examined African *Xoo*
314 strains (Ji et al. 2016; Read et al.;2016). The *Xa1* allele that we discovered in the rice variety
315 CT13432 appears to contain seven LRRs, like the allele originally identified as *Xa45(t)*, which was
316 cloned from the wild rice variety *Oryza nivara-1* (Ji et al. 2020). Other alleles reported to date
317 contain 4 (*Xa14*), 5 (*Xa2* and *Xo1*), and 6 repeats (*Xa1*). Variety FKR47N contains an allele that
318 appears to have 6 LRRs. FKR47N, also called NERICA 17, is the result of crossing *O. glaberrima*
319 variety CG14 and *O. sativa* ssp. *japonica* variety WAB181-18, backcrossing to WAB181-18 as
320 recurrent parent. *Xa1* alleles have been reported in other NERICAs. Alleles in NERICAs 5 and 7,
321 the recurrent parent of which is the *O. sativa* ssp. *japonica* rice variety WAB56-104, have five and
322 six LRRs respectively. NERICAs 12 and 14, coming from the *O. sativa* ssp. *japonica* rice variety
323 WAB56-50, each carry an allele with five LRRs (Ji et al. 2020). According to Ji et al. (2020), a
324 search for *Xa1* allelic members in the 3000 rice genomes revealed that approximately 15% contain

325 the *Xa1* signature sequence. A phenotypic screening for *Xa1*-like resistance in 87 rice accessions
326 revealed its in 16, including different rice species such as *O. glaberrima*, *O. nivara* and *O. sativa* (Ji
327 et al. 2020). A complementary study on more than 500 *O. sativa* accessions revealed that *Xa1*
328 alleles were present in *aus*, *indica*, temperate and tropical *japonica* (Zhang et al. 2020). The
329 frequency of *Xa1* alleles among diverse rice varieties and the variability of LRRs number among
330 *Xa1* alleles observed in these studies and revealed further by our results, underscores the
331 unanswered question of the origin of the gene and the drivers of its diversification.

332 BLB represents a serious threat to rice production in Africa. Varietal resistance is the best strategy
333 to control BLB durably, but it requires sources of resistance effective against the local pathogen
334 genotypes. So far, no African strain of *Xoo* with iTALE/truncTALE has been identified, which
335 makes *Xa1* and its alleles promising tools to control BLB in Africa. Although the durability of *Xa1*
336 in Africa is difficult to predict, the risk of emergence of strains of *Xoo* originating from Asia and
337 their spread through the African continent seems high in the current context of intense global
338 exchanges of rice germplasm and insufficient phytosanitary measures. Pyramiding of resistance
339 genes against BLB is of great value to extend the durability and the spectrum of resistance within a
340 rice variety (Oliva et al. 2019). CT13432 combines several rice blast resistance genes (Pi1, Pi2 and
341 Pi33) (Tharreau et al. 2007; Utami et al. 2011), but here we found out that it also carries at least
342 two, distinct types of resistance to BLB, an apparent *Xa1* allele and a putative, Tall-dependent *E*
343 gene, making it an excellent material for breeding to create improved varieties for Africa. What is
344 more, we expect that the CT13432 might also carry yet another blast resistance gene, *Pi63*, which
345 resides at the same locus as *Xo1* in Carolina Gold Select (Read et al. 2020).

346 **Conclusions**

347 In this study, we identified 12 rice accessions exhibiting resistance against African strains of *Xoo*
348 and described 4 TAL effectors from these strains that exhibit avirulence activity. Analysis of the

349 mechanisms underlying the resistance of the rice variety CT13432 revealed the occurrence of two
350 overlapping sources of resistance including an apparent allele of the broad-spectrum resistance gene
351 *Xa1* and an unidentified putative *E* gene that is activated by TalI. Combining transcriptomics and
352 EBE prediction tools in the genome of CT13432 may allow discovery of this gene in the future.
353 This approach would also be useful to decipher what genes in IR64 confer resistance against strains
354 of *Xoo* with TalD.

355 **Material and Methods**

356 **Bacterial Strains and Growth Conditions**

357 Bacterial strains used in this study are listed in Table S4. *Escherichia coli* was cultivated at 37°C in
358 liquid or solid (15 g agar per L) Luria-Bertani (LB) medium (10 g of tryptone, 5 g of yeast extract,
359 and 5 g of NaCl per L of distilled water), and *Xanthomonas oryzae* pathovars at 28°C in liquid or
360 solid (16 g agar per L) peptone sucrose medium (10 g of peptone, 10 g of sucrose, and 1 g of
361 glutamic acid per L of distilled water).

362 **Plant Materials and Plant Inoculations**

363 The rice accessions screened in this study are listed in Table S1. Plants used were grown in a
364 greenhouse under cycles of 12h of light at 28°C with 80% relative humidity (RH) and 12h of dark
365 at 25°C with 70% RH. When used for bacterial quantification assays, plants were grown in a
366 growth chamber at 28°C and 80% RH (day and night). For lesion length assays, leaves of 5-week-
367 old plants were inoculated by leaf-clipping with a bacterial suspension at an optical density at 600
368 nm (OD_{600}) of 0.2. Lesion lengths were measured 15 days post inoculation (dpi) on at least eight
369 leaves from individual plants per experiment. Leaves of 3-week-old plants were infiltrated with a
370 needleless syringe and a bacterial suspension at an OD_{600} of 0.5. Symptoms were photographed at 5
371 dpi. For bacterial quantification assay, 5-week-old plants were inoculated by leaf-clipping and 10

372 cm distal leaf fragments of three leaves from three individual plants per condition were cut in half
373 and ground in liquid nitrogen separately as reported previously (Yu et al. 2011).

374 **Plasmid Transformation**

375 Plasmids were introduced into *E. coli* cells by heat-shock transformation and into *Xoo* by
376 electroporation or triparental mating (Figurski and Helinski 1979). Appropriate antibiotics for
377 selection were added to growth media at the following final concentrations: rifampicin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$
378 ¹; gentamicin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$; tetracycline, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$; kanamycin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$.

379 *tal* genes of the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 are cloned in pSKX1, which confers
380 gentamicin resistance (Tran et al., 2018; Table S4). The truncTALE *tal2h* is cloned in pKEB31,
381 which confers tetracycline resistance (Read et al. 2016; Table S4). The plasmids are compatible
382 with each other.

383 **Mutant library construction and characterization**

384 The BAI3 Δtal mutants were generated upon electroporation of the wild-type strain BAI3 with the
385 suicide plasmid pSM7 (Cernadas et al. 2014). Mutant strains were selected with kanamycin at 100
386 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. The mutant library was characterized by Southern blot analysis. Extraction of *Xoo*
387 genomic DNA (gDNA) was performed using the Wizard Genomic DNA Purification kit
388 (Promega[®]). Four micrograms of gDNA were digested by *Bam*HI-HF (New England Biolabs) at
389 37°C overnight. The digested DNA was separated in a 1 % agarose gel at 50 Volts for 72 hours at
390 4°C and transferred to a nylon membrane (Roche[®]) overnight. Hybridization was conducted
391 according to the procedures described in the DIG High Prime DNA Labeling and Detection Starter
392 kit II protocol (Roche[®]), using a 725-bp C-terminal *TalC*_{MAI1} amplicon as probe (Yu et al. 2011).

393 **Construction of *talI* activation domain mutant**

394 The *talI*_{MAII}ΔAD construct was made by swapping the central repeat region of a *talF*_{MAII}ΔAD
395 construct with that of *talI*_{MAII}. To create the *talF*_{MAII}ΔAD construct, a PCR product corresponding to
396 a 520 bp fragment encoding the C-terminus of *talF*_{MAII} was obtained with primers ΔAD_Fw and
397 ΔAD_Rv (Table S3), thereby allowing to introduce an inframe 167-nt deletion. This amplicon was
398 introduced into pSKX1_*talF*_{MAII} between the *PvuI* and *HindIII* restriction sites using T4 DNA ligase
399 (Promega®) according to manufacturer's recommendations, creating pSKX1_*talF*_{MAII}ΔAD. The
400 *talI*_{MAII} central repeat region was then swapped into pSKX1_*talF*_{MAII}ΔAD using *StuI* and *AatII*
401 (NEB, New England Biolabs) to generate pSKX1_*talI*_{MAII}ΔAD. The plasmid was confirmed by
402 Sanger sequencing.

403

404 **Expression Analysis by Western Blotting**

405 *Xoo* strains carrying the different combinations of TALE-encoding plasmid, truncTALE (*tal2h*) -
406 encoding plasmid, and empty vectors (pSKX1 or pKEB31) were grown in liquid peptone sucrose
407 medium supplemented with the corresponding antibiotics at 28°C. Cells of 1 ml of a bacterial
408 suspension at an OD₆₀₀ of 0.4 were harvested. Proteins were extracted with the BugBuster® Master
409 Mix (Novagen), according to manufacturer's recommendations. The total protein concentration of
410 each sample was calculated by a Bradford assay following the Bio-Rad Protein Assay protocol
411 (Bio-Rad, USA), and protein concentrations adjusted. TALE and truncTALE expression was
412 analyzed by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis using a 4-15%
413 polyacrylamide gel and immunoblotting using the anti-TALE polyclonal antibody produced by
414 Read et al. (2016) followed by a horseradish peroxidase conjugated rabbit secondary antibody
415 (Sigma-Aldrich). Detection was carried out using the Thermo Scientific™ Pierce™ ECL 2 Western
416 Blotting Substrate kit and a Typhoon™ FLA 9500 (General Electric Healthcare Life Sciences, USA)
417 for imaging.

418 **PCR-amplification of putative functional *Xa1* alleles**

419 To identify rice accessions harboring a potentially functional *Xa1* allele and to decipher the number
420 of 93 aa repetitions, genomic DNA of rice accessions was extracted using an adaptation of the
421 Murray and Thompson protocol (Murray and Thompson 1980) and was subjected to PCR using
422 pairs of primers XaL-F1/XaL-R1 and XaL-F2/XaL-R2, respectively (Table S3; Ji et al. 2020).

423 **Author's Contributions**

424 ML, BS, and MH designed the experiments. ML and MH conducted the experiments. ET
425 participated in plant material growth and propagation. ML, AB, BS, and MH performed data
426 analysis and wrote the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

427 **Funding**

428 This work was supported by the CRP-Rice (CGIAR Research Program) to MH and BS, and the
429 Plant Genome Research Program of the National Science Foundation (Division of Integrative
430 Organismal Systems IOS-1444511 to AJB).

431 **Availability of Data and Materials**

432 The datasets supporting the conclusions of this article are provided within the article and its
433 supplementary information files.

434 **Declarations**

435 **Ethics Approval and Consent to Participate**

436 Not applicable

437 **Consent for Publication**

438 Not applicable

439 **Competing interests**

440 The authors declare that no competing interests exist.

441 **Figure titles and legends**

442 **Fig. S1 Western-blot of PXO99^A *Xoo* transformant total protein extracts using an anti-TALE**
443 **antibody.**

444 Protein extracts prepared from the wild-type *Xoo* strain PXO99^A and the *Xoo* strain PXO99^A
445 carrying, on the vector pSKX1, each of the nine *tal* genes of the Malian strain MAI1 and their
446 variants in the Burkinabe strain BAI3. Reference molecular weights are indicated at right. The
447 expressed MAI1 and BAI3 TALE proteins are each indicated by a red dot. Bands of lower
448 molecular weight not present in the wild-type PXO99^A extract are degradation products of the
449 heterologously expressed TALEs, commonly observed.

450 **Fig. S2. Molecular characterization of a library of BAI3 Δ *tal* mutant strains**

451 Genomic DNA of the wild-type *Xoo* strain BAI3 and derivative BAI3 Δ *tal* mutants were digested by
452 *Bam*HI-HF which cuts on either side of the central repeat region of *tal* genes and revealed by
453 Southern blot using a 725-bp C-terminal *tal*<sub>C_{MAI1} amplicon as probe (Yu et al. 2011). Individual
454 mutants were obtained for each *tal* gene with the exception of *talH*. One double *talG/talH* mutant
455 was analyzed instead. BAI3 Δ *talB* was obtained previously, also using the suicide plasmid pSM7
456 (Tran et al., 2018), and is therefore not included here. *tal* genes are indicated to the left and DNA
457 sizes to the right. Red arrows indicate the *tal* gene(s) that were mutated.</sub>

458 **Fig. 1 BAI3 Δ *talD* loses avirulence on IR64 but BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF* do not on CT13432**
459 **and FKR47N.**

460 (A) Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and BAI3 Δ *talD* carrying
461 an empty vector (EV) or a plasmid with *talD* (*ptalD*). To assess significance, the parametrical test
462 ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case
463 letter are not significantly different. (B) Leaves of rice varieties CT13432, and FKR47N were clip-
464 inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 and with mutant strains BAI3 Δ *talI* and
465 BAI3 Δ *talF*, respectively. Azucena was included for all strains as a susceptible check. Lesion
466 lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm
467 SD. Significant differences ($p < 0.001$) were determined using an unpaired two-sample t-test, bars
468 with « ns » are not statistically different. Experiments were repeated three time with similar results.

469 **Fig. S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with**
470 **BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF* mutants.**

471 Leaves of rice varieties IR64, CT13432, FKR47N and Azucena were infiltrated with the wild type
472 African *Xoo* strain BAI3 and the mutant derivatives BAI3 Δ *talD*, BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF*.
473 Inoculated leaves were photographed at 5 dpi.

474 **Fig. 2 The resistance of CT13432 and FKR47N against African *Xoo* is largely suppressed by a**
475 **truncTALE.**

476 Leaves of CT13432 and FKR47N rice varieties were inoculated with *Xoo* strains BAI3 and MAI1
477 carrying an empty vector (EV) or the truncTALE *tal2h* as well as *Xanthomonas oryzae* pv.
478 *oryzicola* (*Xoc*) strain BLS256 which is naturally carrying *tal2h* and the mutant strain
479 BLS256 Δ *tal2h*. The susceptible rice variety Azucena and the Asian *Xoo* strain PXO99^A were used
480 as controls. Leaves were photographed at 5 dpi.

481 **Fig. S4. The *tal2h* truncTALE reveals *Xa1*-like resistance against the *Xoo* strain BAI3 in**
482 **several rice varieties.**

483 Leaves of rice accessions, including Carolina Gold Select which carries *Xo1*, and IRBB1 which
484 carries *Xa1*, were infiltrated with *Xoc* strain BLS256 which naturally carries the *tal2h* truncTALE
485 gene, the mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, as well as with *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector
486 (EV) or *tal2h*. The Asian *Xoo* strain PXO99^A which harbors two truncTALEs, was used as an
487 additional positive control. Leaves were photographed at 5 dpi.

488 **Fig. 3 The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of *Xa1*.**

489 The genomic DNA of rice varieties Carolina Gold Select, IR64, CT13432, FKR47N, Nipponbare,
490 Azucena, IRBB1 and IR24 were used as a template for PCR amplification of (A) the junction of the
491 first repeat of 279 base pairs of *Xa1* and its upstream region, (B) the whole repeat region of *Xa1* and
492 alleles, and (C) the housekeeping gene *OsSUT1* used as a control. All the samples were run on the
493 same gel.

494 **Fig. 4 Suppression of *Xa1*-like resistance unmasks *talI* avirulence activity in the rice variety**
495 **CT13432.**

496 (A) Leaves of CT13432 and Azucena plants were clip-inoculated with the *Xoo* strain BAI3 carrying
497 the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3 Δ *talI* mutant carrying the pKEB31 empty vector (EV),
498 the BAI3 strain expressing the *tal2h* truncTALE, and BAI3 Δ *talI* expressing *tal2h* and the pSKX1
499 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3}, *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1} Δ AD. Lesion lengths were
500 measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. (B) Bacterial counts were taken 7
501 days post-inoculation of rice leaves of CT13432 and Azucena inoculated with the same panel of

502 *Xoo* strains used in (A). Statistical tests in both experiments were carried out in R using the
503 nonparametric Kruskal-Wallis and Dunn's tests ($\alpha = 0.05$). Values labeled with the same lower-case
504 letter are not significantly different.

505 **Fig. S5. Western-blot analysis of *Xoo* total protein extracts using an anti-TALE antibody.**
506 Proteins extracts prepared from *Xoo* strain BAI3 carrying the empty vector pKEB31 (EV),
507 BAI3 Δ *talI* carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3 carrying the *tal2h* truncTALE gene, and
508 BAI3 Δ *talI* with *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3} or *talI*_{MAII} or
509 *talI*_{MAII} Δ AD. BAI3 *tal* genes and *tal2h* are indicated to the left and right, respectively. Molecular
510 weight is indicated.

511 **References**

- 512 Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to
513 elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650.
514 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- 515 Boch J, Bonas U, Lahaye T (2014) TAL effectors - pathogen strategies and plant resistance
516 engineering. *New Phytol* 204:823–832. <https://doi.org/10.1111/nph.13015>
- 517 Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of
518 TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512.
519 <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- 520 Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, et al (2014) Code-Assisted Discovery of TAL Effector
521 Targets in Bacterial Leaf Streak of Rice Reveals Contrast with Bacterial Blight and a Novel
522 Susceptibility Gene. *PLoS Pathog* 10:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- 523 Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-
524 spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- 525
- 526 Chu Z, Fu B, Yang H, et al (2006) Targeting xa13, a recessive gene for bacterial blight resistance in
527 rice. *Theor Appl Genet* 112:455–461. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0145-6>
- 528 Djedatin G, Ndjioudjop MN, Mathieu T, et al (2011) Evaluation of African cultivated rice *Oryza*
529 *glaberrima* for resistance to bacterial blight. *Plant Dis* 95:441–447.
530 <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0558>
- 531 Doucouré H, Pérez-Quintero AL, Reshetnyak G, et al (2018) Functional and genome sequence-
532 driven characterization of tal effector gene repertoires reveals novel variants with altered
533 specificities in closely related malian *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains. *Front Microbiol*
534 9:1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01657>

535 Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT)
536 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122.
537 <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>

538 Figurski DH, Helinski DR (1979) Replication of an origin-containing derivative of plasmid RK2
539 dependent on a plasmid function provided in trans. *Proc Natl Acad Sci* 76:1648–1652.
540 <https://doi.org/10.1073/PNAS.76.4.1648>

541 Fragoso CA, Moreno M, Wang Z, et al (2017) Genetic Architecture of a Rice Nested Association
542 Mapping Population. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 7:1913–1926.
543 <https://doi.org/10.1534/G3.117.041608>

544 Garcia-Ruiz H, Szurek B, Van den Ackerveken G (2021) Stop helping pathogens: engineering plant
545 susceptibility genes for durable resistance. *Curr Opin Biotechnol* 70:187–195.
546 <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.05.005>

547 Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new
548 *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546.
549 <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>

550 Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers
551 disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>

552 Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459.
553 <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>

554 Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance
555 gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>

556 Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a
557 broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J*
558 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>

559 Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by
560 Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087.
561 <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>

562 Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-
563 mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>

564 Jiang N, Yan J, Liang Y, et al (2020) Resistance Genes and their Interactions with Bacterial Blight/
565 Leaf Streak Pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in Rice (*Oryza sativa* L.)—an Updated Review.
566 *Rice* 13:. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0358-y>

567 Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting
568 wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front*
569 *Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>

570 Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-
571 specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969.
572 <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>

573 Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and
574 fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto->
575 [102313-045926](https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926)

576 Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice
577 susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant*
578 *Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>

579 Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors.
580 *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>

581 Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic*
582 *Acids Res* 8:4321–4326. <https://doi.org/10.1093/NAR/8.19.4321>

583 Niño-Liu DO, Ronald PC, Bogdanove AJ (2006) *Xanthomonas oryzae* pathovars: Model pathogens
584 of a model crop. *Mol Plant Pathol* 7:303–324. [https://doi.org/10.1111/j.1364-](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x)
585 [3703.2006.00344.x](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x)

586 Oliva R, Ji C, Atienza-Grande G, et al (2019) Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice
587 using genome editing. *Nat Biotechnol* 37:1344–1350. [https://doi.org/10.1038/s41587-019-](https://doi.org/10.1038/s41587-019-0267-z)
588 [0267-z](https://doi.org/10.1038/s41587-019-0267-z)

589 Pérez-Quintero AL, Rodríguez-R LM, Dereeper A, et al (2013) An Improved Method for TAL
590 Effectors DNA-Binding Sites Prediction Reveals Functional Convergence in TAL Repertoires
591 of *Xanthomonas oryzae* Strains. *PLoS One* 8:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>

592 Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat
593 analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf
594 streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698.
595 <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>

596 Read AC, Hutin M, Moscou MJ, et al (2020) Cloning of the rice Xo1 resistance gene and
597 interaction of the Xo1 protein with the defense-suppressing *Xanthomonas* effector Tal2h. *Mol*
598 *Plant-Microbe Interact* 33:1189–1195. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-20-0131-SC>

599 Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020) Genome assembly and characterization of a complex
600 zfBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with
601 Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zfBED-NLR gene-containing Dis*
602 *Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678.
603 <https://doi.org/10.1101/675678>

604 Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (2016) Suppression of Xo1-mediated disease resistance in rice
605 by a truncated, non-DNA-binding TAL effector of *Xanthomonas oryzae*. *Front Plant Sci* 7:1–
606 [14. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516)

607 Ryba-White M, Notteghem JL, Leach J. (1995) Comparison of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*
608 strains from Africa, North America, and Asia by restriction fragment length polymorphism

609 analysis. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=QR9500053>. Accessed 14 Aug
610 2021

611 Savary S, Willocquet L, Pethybridge SJ, et al (2019) The global burden of pathogens and pests on
612 major food crops. *Nat Ecol Evol* 3:430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>

613 Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant
614 breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol*
615 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>

616 Song W-YY, Wang G-LL, Chen L-LL, et al (1995) A receptor kinase-like protein encoded by the
617 rice disease resistance gene, Xa21. *Science* (80-) 270:1804.
618 <https://doi.org/10.1126/science.270.5243.1804>

619 Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, et al (2012) RNA-seq pinpoints a *Xanthomonas* TAL-
620 effector activated resistance gene in a large-crop genome. *Proc Natl Acad Sci U S A*
621 109:19480–19485. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

622 Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer
623 TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol*
624 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>

625 Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) Xa26, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv.
626 *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527.
627 <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>

628 Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas*
629 *oryzae* pv. *oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–
630 277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>

631 Tharreau D, Nottoghem JL, Morel JB, et al (2007) Developing Blast Durable Resistance By Using
632 The Wild Rice Species, *Oryza rufipogon* : Presentasi RUTI IV

633 Tian D, Wang J, Zeng X, et al (2014) The Rice TAL effector-dependent resistance protein XA10
634 triggers cell death and calcium depletion in the endoplasmic reticulum. *Plant Cell* 26:497–515.
635 <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>

636 Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas*
637 *oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice.
638 *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>

639 Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger C, et al (2016) A resistance locus in the American heirloom
640 rice variety Carolina Gold Select is triggered by TAL effectors with diverse predicted targets
641 and is effective against African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. *Plant J* 87:472–
642 483. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>

643 Triplett LR, Hamilton JP, Buell CR, et al (2011) Genomic analysis of *Xanthomonas oryzae* isolates
644 from rice grown in the united states reveals substantial divergence from known *X. oryzae*
645 pathovars. *Appl Environ Microbiol* 77:3930–3937. <https://doi.org/10.1128/AEM.00028-11>

646 UTAMI DW, Barnita K, Yuriah S, Hanarida I (2011) Nucleotide Base Variation of Blast Disease
647 Resistance Gene Pi33 in Rice Selected Broad Genetic Background. *HAYATI J Biosci* 18:123–
648 128. <https://doi.org/10.4308/hjb.18.3.123>

649 Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is
650 triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv.
651 *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>

652 Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor r protein and confers broad-spectrum
653 disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>

654 Wonni I, Hutin M, Ouédraogo L, et al (2016) Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New
655 Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa. *Rice Res Open Access* 4:1–
656 8. <https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162>

- 657 Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding
658 a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. [https://](https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x)
659 doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x
- 660 Yu Y, Streubel J, Balzergue S, et al (2011) Colonization of rice leaf blades by an African strain of
661 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* depends on a new TAL effector that induces the rice nodulin-
662 3 Os11N3 gene. *Mol Plant-Microbe Interact* 24:1102–1113. [https://doi.org/10.1094/MPMI-11-](https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254)
663 [10-0254](https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254)
- 664 Zhang B, Zhang H, Li F, et al (2020) Multiple Alleles Encoding Atypical NLRs with Unique
665 Central Tandem Repeats in Rice Confer Resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant*
666 *Commun* 1:100088. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100088>
- 667 Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9.
668 <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>

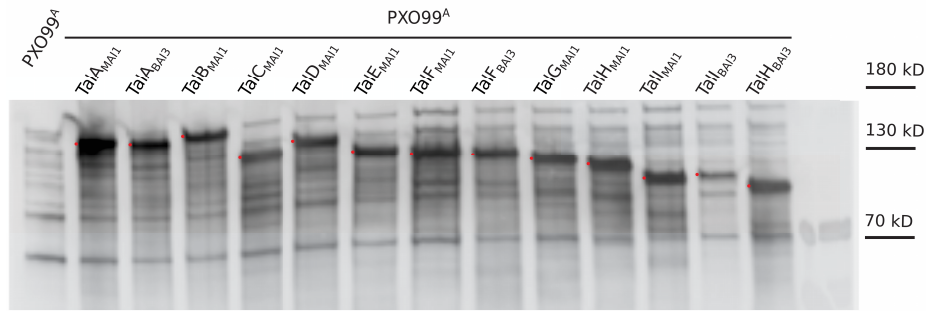


Fig. S1 Western-blot analysis of PXO99^A *Xoo* transformant total protein extracts using an anti-TALE antibody.

Protein extracts prepared from the wild-type *Xoo* strain PXO99^A and the *Xoo* strain PXO99^A carrying, on the vector pSKX1, each of the nine *tal* genes of the Malian strain MAI1 and their variants in the Burkinabe strain BAI3. Reference molecular weights are indicated at right. The expressed MAI1 and BAI3 TALE proteins are each indicated by a red dot. Bands of lower molecular weight not present in the wild-type PXO99^A extract are degradation products of the heterologously expressed TALEs, commonly observed.

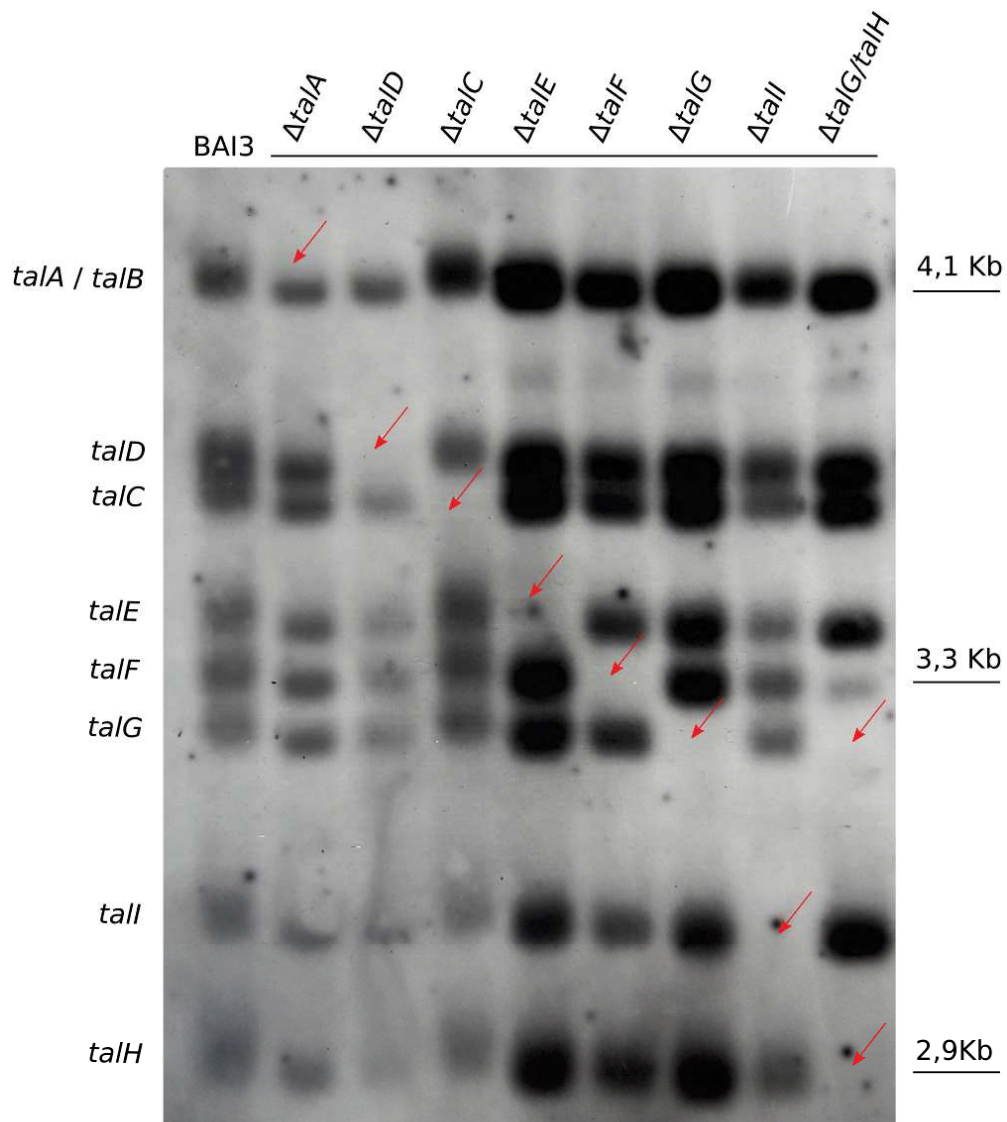


Figure S2. Molecular characterization of a library of BAI3Δtal mutant strains.

Genomic DNA of the wild-type *Xoo* strain BAI3 and derivative BAI3Δtal mutants were digested by *Bam*HI-HF which cuts on either side of the central repeat region of *tal* genes and revealed by Southern blot using a 725-bp C-terminal *talC*_{MA11} amplicon as probe (Yu et al. 2011). Individual mutants were obtained for each *tal* gene with the exception of *talH*. One double *talG/talH* mutant was analyzed instead. BAI3ΔtalB was obtained previously, also using the suicide plasmid pSM7 (Tran et al. 2018), and is therefore not included here. *tal* genes are indicated to the left and DNA sizes to the right. Red arrows indicate the *tal* gene(s) that were mutated.

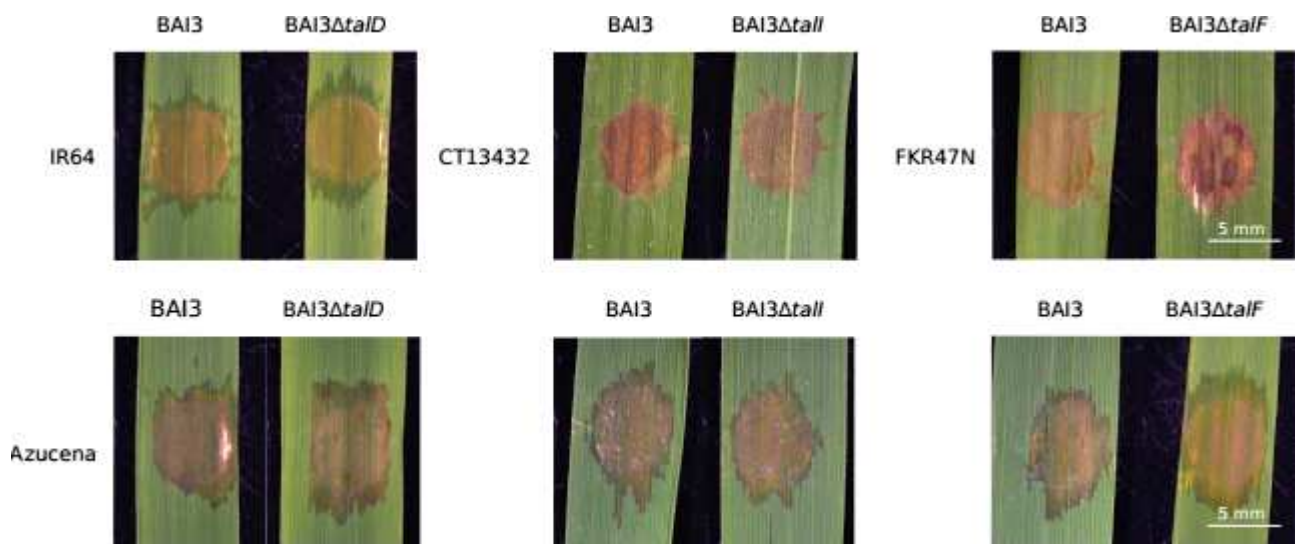


Figure S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF* mutants.

Leaves of rice varieties IR64, CT13432, FKR47N and Azucena were infiltrated with the wild type African *Xoo* strain BAI3 and the mutant derivatives BAI3 Δ *talD*, BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF*. Inoculated leaves were photographed at 5 dpi.

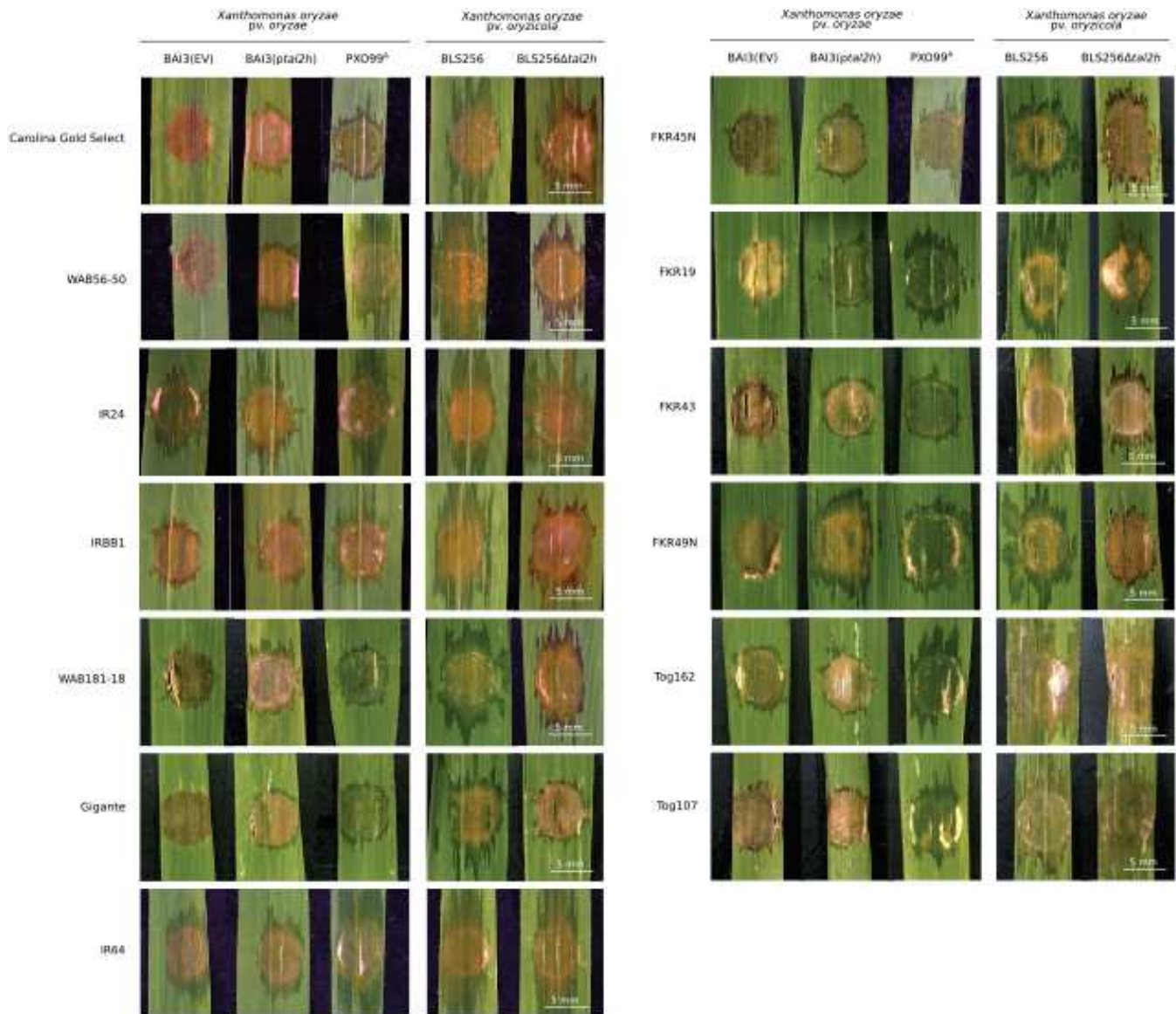


Figure S4. The *tal2h* truncTALE reveals *Xa1*-like resistance against the *Xoo* strain BAI3 in several rice varieties.

Leaves of rice accessions, including Carolina Gold Select which carries *Xo1*, and IRBB1 which carries *Xa1*, were infiltrated with *Xoc* strain BLS256 which naturally carries the *tal2h* truncTALE gene, the mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, as well as with *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector (EV) or *tal2h*. The Asian *Xoo* strain PXO99^A which harbors two truncTALEs, was used as an additional positive control. Leaves were photographed at 5 dpi.

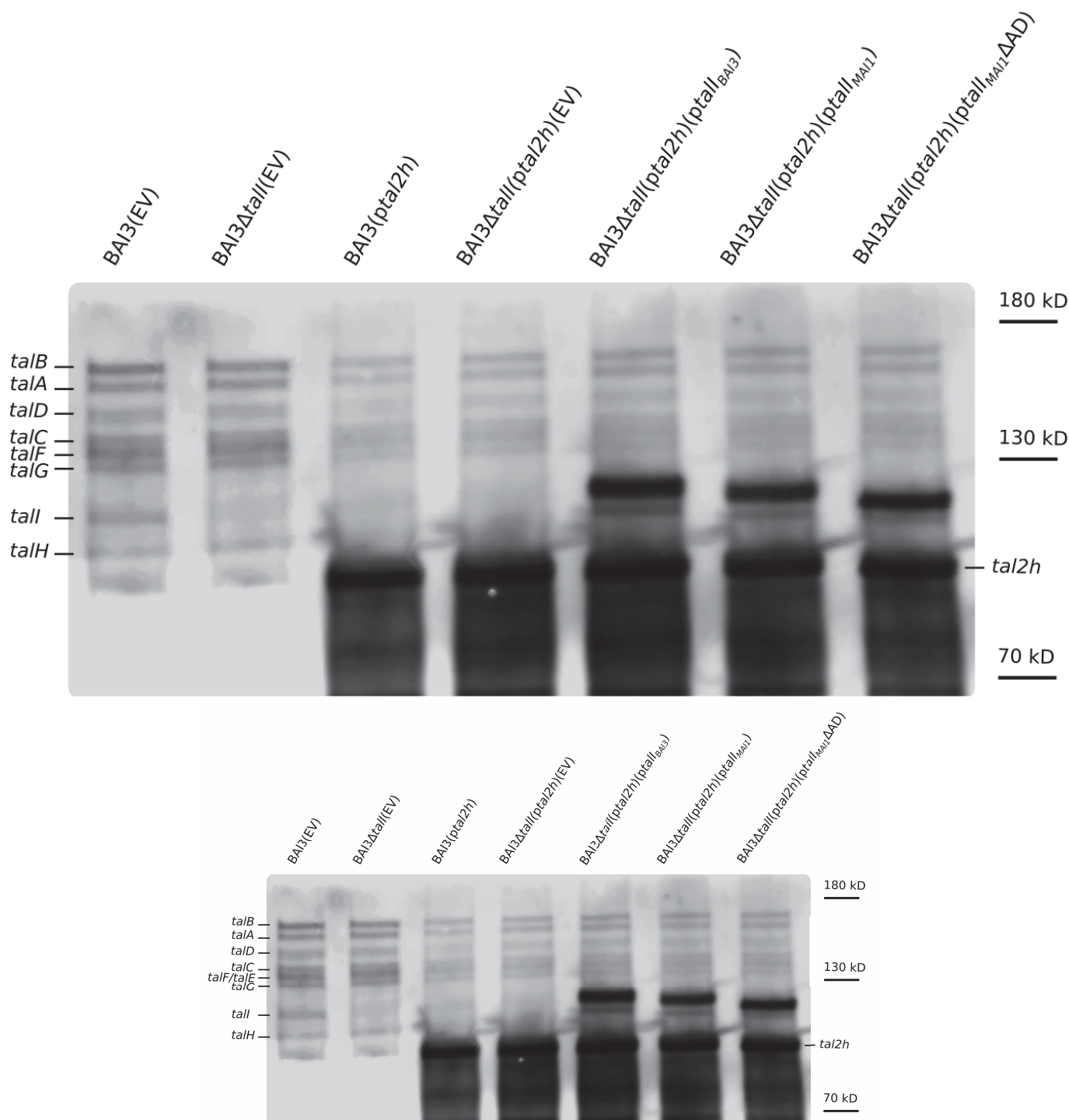


Figure S5. Western-blot analysis of *Xoo* total protein extracts using an anti-TALE antibody.

Proteins extracts prepared from *Xoo* strain BAI3 carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3Δ*talI* carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3 carrying the *tal2h* truncTALE gene, and BAI3Δ*talI* with *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3} or *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1}ΔAD. BAI3 *tal* genes and *tal2h* are indicated to the left and right, respectively. Molecular weight is indicated.

O. glaberrima set

Name§	Country of collection	Sample ORSTOM ID	IRRI IRGC accession #	IITA accession (TOG #)	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
Og_142	Senegal	CG14	96717	CG 14*	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_49	Nigeria	96793	96793	5681	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	MR
Og_81	Guinea	6205	NA	6205	<i>O. glaberrima</i>	R	R	R
Og_94	Liberia	6308	NA	6308	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	S
Og_107	Sierra Leone	96888	96888	7020	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S
Og_187	Gambia	8527	NA	8527	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	MS
Og_97	Liberia	6356	115598	6356	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_106	Sierra Leone	6951	NA	6951	<i>O. glaberrima</i>	R	S	MR
NA	Unknown	6710	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	S
Og_110	Mali	7108	NA	7108	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	S
Og_500	Guinea	YG104	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	S	MS
Og_489	Senegal	CG170	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_162	Chad	7255	NA	7255	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S
Og_108	Sierra Leone	7047	NA	7047	<i>O. glaberrima</i>	R	S	R
Og_22	Nigeria	5453	5453	5453	<i>O. glaberrima</i>	R	S	-
Og_103	Liberia	6698	NA	6698	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	MS
Og_69	Nigeria	5984	NA	5984	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_96	Liberia	6343	NA	6343	<i>O. glaberrima</i>	MR	MR	MR
Og_485	Senegal	CG140	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_507	Guinea	YG325	104189	12438	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_131	Côte d'Ivoire	10449	NA	10449	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MS
Og_496	Senegal	OG19	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	-	MR
Og_181	Burkina Faso	7451	NA	7451	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_510	Guinea	YG367	104371	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_475	Senegal	CG46	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	R
Og_213	Guinea	12401	NA	12401	<i>O. glaberrima</i>	-	MS	MS
Og_73	Nigeria	6142	NA	6142	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_504	Guinea	YG301	104182	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_498	Senegal	SG329	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	R
Og_154	Guinea	YG353	104194	12444	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	MR
Og_180	Burkina Faso	7449	NA	7449	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_67	Nigeria	5976	NA	5976	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MR
Og_105	Sierra Leone	6943	NA	6943	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_104	Sierra Leone	6790	NA	6790	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MS
Og_170	Nigeria	7280	NA	7280	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S
Og_27	Nigeria	5479	NA	5479	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_33	Nigeria	5503	NA	5503	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_151	Guinea	14367	NA	14367	<i>O. glaberrima</i>	S	S	MS
Og_243	Zimbabwe	14184	NA	14184	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_411	Côte d'Ivoire	IG35	103487	7202	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_427	Cameroon	UG20	103594	7266	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	S
Og_153	Guinea	13709	NA	13709	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_20	Nigeria	96751	96751	5438	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_111	Nigeria	5286	NA	5286	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_7	Nigeria	5314	NA	5314	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_19	Nigeria	5437	NA	5437	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_113	Nigeria	5439	NA	5439	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_79	Guinea	86805	86805	6202	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	-
Og_116	Nigeria	5533	NA	5533	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S
Og_129	Nigeria	5997	NA	5997	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_100	Liberia	6603	NA	6603	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_159	Mali	7219	NA	7219	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_184	Côte d'Ivoire	7554	NA	7554	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_163	Nigeria	12086	12086	NA	<i>O. glaberrima</i>	MS	MR	MR
Og_218	Guinea	12426	12426	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	MR
Og_164	Nigeria	12160	12160	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_491	Unknown	OG1	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_486	Unknown	CG150	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_417	Unknown	IG269	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_10	Unknown	5326	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_30	Unknown	5494	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S

O. sativa set

Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
WAB56-50	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
WAB56-104	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	S	S	S
WAB181-18	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
FKR14	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	S	S	S
FKR19	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
FKR28	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	S	S	S
FKR43	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
IR64*	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	R	MR	S
ADNY	Unknown	<i>O. sativa</i>	R	S	S
CT13432	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
Gigante	Unknown	<i>O. sativa</i>	R	R	S
IR8	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	R	S	MS
MG12	Unknown	<i>O. sativa</i>	S	MS	S
Caiapo	Unknown	<i>O. sativa</i>	MR	S	S
Azucena	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	S	S	S

O. barthii set

§ Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
530A1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S
530W1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S
523W1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S

Elite Varieties in West Africa

Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
FKR45N / NERICA 12	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR47N / NERICA 17	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR49N / NERICA 13	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR56N / NERICA-L-41	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	S	S
FKR58N / NERICA-L-60	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	S	S
FKR60N / NERICA-L-20	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	S	S	S
FKR62N / NERICA-L-19	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	S	S	S

Table S1. Rice accessions screened for resistance to African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and susceptibility to PXO99^A.

§ Name reference from Orjuela et al., 2014.

Accession names highlighted in bold are resistant or moderately resistant to MAI1 and BAI3, and susceptible to PXO99^A.

° Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after inoculation. Resistant (R); moderately resistant (MR); moderately susceptible (MS); susceptible (S).

There is a (-) when the strain was not tested on the accession.

The previous name of IRD (Institute of Research for Development) was ORSTOM : « Office de la recherche scientifique et technique » outre-mer.

IRRI IRGC : International Rice Research Institute, International Rice Genebank Collection.

NA means « Not Assigned », when no IRRI or ITTA name was assigned to an accession.

* genome accession sequenced.

		<i>CT13432</i>	<i>FKR19</i>	<i>FKR43</i>	<i>FKR45N</i>	<i>FKR47N</i>	<i>FKR49N</i>	<i>Gigante</i>	<i>WAB181-18</i>	<i>WAB56-50</i>	<i>IRBB1*</i>	<i>CGS^o</i>	<i>Og_162</i>	<i>Og_107</i>	<i>IR64</i>
Leaf-clipping (a)	MAI1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	BAI3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MR	MR	MR
	PXO99^A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Infiltration (b)	MAI1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	BAI3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Table S2. Prevalence of Xa1-like activity in rice accessions resistant to African *Xoo* strains MAI1 and BAI3.

(a) Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after leaf-clip inoculation. Resistant (R); moderately resistant (MR); moderately susceptible (MS); susceptible (S).

(b) Leaf infiltration phenotypes were scored 5 days after inoculation. (+) Hypersensitive reaction ; (-) Water-soaking.

* IRBB1 is a control accession harboring the *Xa1* resistance gene.

^o Carolina Gold Select (CGS) is a control accession harboring the *Xo1* resistance gene.

Primer	Sequence (5' to 3')	Goal	Source
Tal-Ct-Fw2	GCGTTGGCCGCGTTGACCAA	Probe amplification for Southern blotting	Yu <i>et al.</i> , 2011
Tal-Ct-Rev2	GGGGCCGCATCTTGTTCCCA		
XaL-F1	ATCAGGAACTTGAAGTCCAG	Xa1 alleles identification	Ji <i>et al.</i> , 2020
XaL-R1	AACCACTGATTGCGGAAGG		
XaL-F2	CCTCCGCAATCAGTGTT		
XaL-R2	AATGTAGCAAGCGACGCACA	Estimation of LRRs number in <i>Xa1</i> alleles	
SUT1 Fw	GTCGGTCTATACAGTGATAGGTG	Amplification of the housekeeping gene <i>OsSUT1</i>	Eom JS personal communication
SUT1 Rv	GAACAGAAGATGGAGTTAGCTGT		
ΔAD Fw	CACGCATTTGATGAGGCCATGACG	Construction of pSKX1-ΔAD	This study
ΔAD Rv	TGCCGACCTGGCAGCGTCCAGCGAGGACTACAAAGACGATGACGACAAGTGAAGCTTAA		

Table S3. List of primers used in this study.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
Strains			
Escherichia coli			
DH10β	Strain used for triparental mating		Life Technologies, Rockville, MD, USA
Helper strain	used for triparental mating, helper plasmid pRK2013	Kanamycin	Figurski and Helinski 1979
Xanthomonas oryzae pv. oryzae			
PXO99 ^A	Asian strain	Rifampicin	Hopkins et al., 1992
PXO99 ^A (pSKX1 EV)	PXO99 ^A transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Gentamicin	This study
PXO99 ^A (<i>ptales</i>)	PXO99 ^A transformed with <i>tale</i> genes of MAI1 expressed in pSKX1	Rifampicin, Gentamicin	This study
MAI1	Malian strain race A3	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
MAI1(pKEB31 EV)	MAI1 transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Tetracycline	This study
MAI1(<i>ptal2h</i>)	MAI1 transformed with <i>ptal2h</i>	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3	Burkinabe strain race A1	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3(pKEB31 EV)	BAI3 transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3(<i>ptal2h</i>)	BAI3 transformed with <i>ptal2h</i>	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (pKEB31_EV)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(pSKX1_EV)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{BAI3})	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{BAI3}	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{MAI1})	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{MAI1}	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{MAI1} ΔAD)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{MAI1} ΔAD	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
Xanthomonas oryzae pv. oryzicola			
BLS256	Asian strain	Rifampicin	Bogdanove et al., 2011
BLS256Δ <i>tal2h</i>	<i>tal2h</i> knock-out mutant of BLS256	Rifampicin, Tetracycline	Read et al., 2016
Plasmids			
pSKX1_EV	Empty vector	Gentamicin	Streubel et al., 2013
<i>ptalD</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>talD</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
<i>ptall</i> _{BAI3}	pSKX1 vector expressing <i>tall</i> _{BAI3}	Gentamicin	This study
<i>ptall</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>tall</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
<i>ptalF</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>talF</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pSKX1-ΔAD	Vector used for the expression of <i>tale</i> ΔAD derivative	Gentamicin	This study
pSKX1- <i>talF</i> _{MAI1} ΔAD	pSKX1-ΔAD vector expressing <i>talF</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pSKX1- <i>tall</i> _{MAI1} ΔAD	pSKX1-ΔAD vector expressing <i>tall</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pKEB31_EV	Empty vector	Tetracycline	Cermak et al., 2011
<i>ptal2h</i>	pKEB31 vector expressing the truncTALE <i>tal2h</i>	Tetracycline	Read et al., 2016
pSM7	Suicide plasmid for <i>tale</i> mutagenesis	Kanamycin	Cernadas et al., 2014

Table S4. Bacterial strains and plasmids used in this study.

Chapitre 2 : Identification de QTL majeurs et mineurs conférant la résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* chez le riz (*Oryza sativa* ssp. *indica*)

Contexte

Des données générées par Gustave Djedatin pendant sa thèse, rapportent l'identification dans la variété IR64 de plusieurs loci conférant une résistance spécifique aux souches Africaines de *Xoo* (Djedatin et al., 2016). Grâce à une population de lignées recombinantes (RIL, pour *Recombinant Inbred Lines*) de génération F₉ issues du croisement entre la variété résistante IR64 (*O. sativa* ssp. *indica*) et la variété sensible Azucena (*O. sativa* ssp. *japonica* tropicale), trois QTL de résistance aux souches Africaines avaient été identifiés. Par ailleurs, l'identification (dans le chapitre 1) du TALE d'avirulence TalD chez les souches Africaines MAI1 et BAI3 induisant de la résistance dans la variété IR64 pourrait rajouter une nouvelle pièce au puzzle. L'objectif de cette partie était donc dans un premier temps de confirmer et préciser les zones QTL précédemment rapportées, et dans un second temps de vérifier l'hypothèse de l'existence d'un lien entre les QTL de résistance identifiés et ce TALE d'avirulence commun à plusieurs souches Africaines.

Matériels & Méthodes/Stratégie

Dans le but de répondre à l'objectif de ce projet, j'ai eu à ma disposition les descendants F₁₁ de la population de RIL utilisée par Gustave Djedatin lors de sa thèse (2016). Cette population, composée de 210 lignées qui ont chacune été séquencée par la technologie Illumina, possède entre 1 et 1,5 million de marqueurs SNP par lignée (collab. M. Lorieux, CIAT/IRD). Toutes les lignées disponibles (donnant plusieurs plantes en capacité d'être inoculées), soit 80 lignées, ont été criblées avec les souches Africaines de *Xoo* MAI1, BAI3 et la souche Asiatique PXO99^A, dans le but de confirmer les zones de QTL précédemment identifiées. Par ailleurs, une autre population de 542 familles F_{2:3} provenant aussi du croisement entre IR64 et Azucena était à disposition au CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombie). Certaines de ces familles ont été sélectionnées car leurs F₂ étaient recombinantes au niveau des QTL identifiés à partir de la population F₁₁ sur une distance, en paires de bases, qui varie. Pour aller plus loin et pouvoir faire le lien entre un de ces QTL de résistance et le TALE d'avirulence TalD, une partie des lignées recombinante de la population F₁₁ a été criblée avec la souche sauvage BAI3 et la souche mutante BAI3[°]*talD* portant soit un vecteur vide (EV), soit complémentée avec *talD* (*ptalD*).

Résultats & Conclusion(s)

Suite à l'inoculation de 80 lignées de la population de RIL avec les souches MAI1, BAI3 et PXO99^A, plusieurs QTL impliqués dans la résistance aux souches Africaines de *Xoo* ont pu être

identifiés chez IR64. Certains des QTL identifiés lors de cette étude coïncident avec ceux précédemment rapportés par Gustave Djedatin (2016). D'autres n'ont pas été retrouvés, mais de nouveaux QTL ont été mis en lumière. De plus, le criblage d'une partie de la population F₁₁ a permis d'établir un lien entre le QTL de résistance au niveau du chromosome 11 et le TALE d'avirulence TalD. Pour finir, l'utilisation d'une population F_{2:3} IR64 x Azucena, a permis de réduire à 25 kb l'intervalle du QTL sur le chromosome 11, diminuant ainsi le nombre de gènes candidats à seulement quatre.

Perspectives

Des analyses du transcriptome avec les souches sauvages MAI1 et BAI3, et avec la souche mutante BAI3 Δ talD transformée avec un vecteur vide, ou complémentée avec *talD*, pourraient être entreprises. Ces analyses permettraient d'identifier, d'une part, les potentiels gènes exécuteurs candidats ciblés par TalD dans les QTL sur le chromosome 11, et d'autre part, de mettre en évidence les voies communes et spécifiques de la résistance induites par MAI1 et BAI3 chez IR64.

Par la suite, le *knock-out* ou *knock-down* par édition des gènes candidats, par CRISPR-Cas9 par exemple, ainsi que le clonage de ces derniers et leur transformation dans des variétés sensibles (i.e. complémentation fonctionnelle), permettrait de confirmer que les gènes candidats sont bien responsables de la résistance observée sur IR64 suite à l'inoculation de MAI1 et BAI3.

Implication personnelle

Mathias Lorieux m'a accompagnée dans les analyses des données de cartographie, et l'utilisation des logiciels MapDisto, Qgene et QTL IciMapping. Mathias L. a également réalisé le séquençage du matériel génétique (populations), identifié les marqueurs SNP, et réalisé l'imputation de ces données avec le logiciel NOISYmputer. Les graphiques avec les données de cartographie ont été réalisés sous R et MapDisto par moi-même. Émilie Thomas a participé aux semis des lignées de la population de RIL F₁₁ pour les expérimentations, ainsi que pour la propagation des graines. Le reste des expériences a été entièrement réalisé par mes soins (inoculation des souches bactériennes, lectures des lésions, analyse des données).

Identification of major and minor QTLs conferring resistance to African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice (*Oryza sativa* ssp. *indica*)

Marlène Lachaux¹, Mathias Lorieux², Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²DIADE DIversity-Adaptation-DEvelopment of plants, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, CNRS, Montpellier, France

Abstract

Caused by the gram-negative bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), Bacterial Leaf Blight (BLB) is considered among the most devastating diseases in Asia and Africa, causing up to 50% of yield losses. Studies on the diversity of *Xoo* strains reported that African *Xoo* are genetically distant from Asian ones and they trigger specific resistance sources in rice. Nonetheless, to date few resistance QTLs or major resistance genes effective against African *Xoo* strains have been identified, compared to Asian strains. As BLB represents a major threat in West Africa, breeding programs have implemented various strategies, such as pyramiding of several *R* genes into commercial rice varieties, in order to minimize epidemic consequences.

In this study, using Recombinant Inbred Lines (RILs) from the cross between the elite *indica* IR64 variety and the tropical *japonica* Azucena landrace, a mapping analysis revealed novel, shared and specific resistance QTLs against African *Xoo* strains. Moreover, our results suggest that one of the QTL (*qABB-11*), conferring resistance to four African strains of *Xoo*, is associated to the avirulence gene *talD* which we previously have shown to promote resistance on IR64.

Introduction

The ancient domesticated crop, rice (*Oryza sativa* L.) is a staple food for much of the world's population and one of the most widely cultivated crops on Earth (Ainsworth 2008). Unfortunately, the continuous increase in production to meet the strong demand due to the population growth faces many challenges. In nature, plants face multiple abiotic stress caused by droughts, floods and extreme temperatures, or biotic stress promoted by diverse and widespread pathogens causing numerous diseases. Following the recent expansion and intensification of rice cultivation in Africa, major threats that could cause severe production losses have emerged. Indeed, since the 1980s Bacterial Leaf Blight (BLB) disease, caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), has been reported in several regions of Africa (Gonzalez et al. 2007; Verdier et al. 2012). *Xoo* represents a significant threat for agriculture and global food security, as it can cause up to 50% of yield losses depending on several parameters, as the rice variety, the environmental conditions and the host growth stage (Liu et al. 2014).

To overcome this threat, breeding programs have implemented various strategies, such as development of resistant lines or cultivars which is more effective and economical way of control than chemicals. In order to do this, *R* genes against *Xoo* are required, and thankfully, to date in rice more than 40 *R* genes have been identified and among them 12 have been cloned (Jiang et al. 2020). The identified resistance genes encode different types of proteins that suggest multiple mechanisms of resistance to *Xoo*. Of the 12 rice *R* genes characterized to date, only 3 (*Xa3/Xa26*, *Xa4*, and *Xa21*) encode protein kinases and 9 (*Xa1*, *xa5*, *Xa7*, *Xa10*, *xa13*, *Xa23*, *xa25*, *Xa27*, *xa41*) involve *Xanthomonas* TAL effectors. Four of them are executor (*E*) genes (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* and *Xa27*) uniquely induced by TALEs found in Asian *Xoo* strains (Hopkins et al. 1992; Gu et al. 2005; Wang et al. 2014), four are recessive loss-of-susceptibility resistance alleles including *xa5* (*OsTFIIA γ 5*), *xa13* (*OsSWEET11*), *xa25* (*OsSWEET13*), and *xa41* (*OsSWEET14*) (Römer et al. 2010; Liu et al. 2011; Hutin et al. 2015), and only one, *Xa1*, encodes an NLR (nucleotide-binding domain leucine rich repeat) (Yoshimura et al. 1998). Widely deployed in breeding programs as single *R* gene, some of them were unfortunately overcome by certain races of the pathogen. For example, strains with mutated *avrXa7* overcome the resistance mediated by *Xa7*, and the deployment of *Xa4* on 80% of total rice farming area in Philippines favored the emergence of *Xa4*-overcoming strains (Mew 1992; Vera Cruz et al. 2000; Quibod et al. 2020). Moreover, the resistance gene *xa5*, yet effective against a broad spectrum of *Xoo* strains, is ineffective against strains that possess the TALE gene *pthXo1* such as PXO99^A and PXO71 (Huang et al. 2016). Therefore, to prevent breakdown of resistance due to pathogenic variation in *Xoo*, enhancing host resistance by pyramiding two or more effective resistance genes into commercial rice varieties, is considered the most effective strategy to achieve durable disease resistance in rice. For example, the resistance genes *Xa7* and *Xa21* have been

introgressed into the susceptible line "Minghui 63", a restorer line widely used in hybrid rice production in China. This line and others having only one of the resistance genes were evaluated for resistance after inoculation with 10 isolates of pathogens, and the pyramided double resistance line "Minghui 63" showed a higher level of resistance to BLB than the others, clearly indicating that pyramiding of dominant genes is a useful approach for improving BLB resistance in rice (Zhang et al. 2006).

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* strains from Asia and their counterpart from Africa although having the same mode of infection, differ in some points. First, they are genetically distant from each other and the African *Xoo* lineage is closer to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) which is the causal agent of bacterial leaf streak (Poulin et al. 2015). Moreover, a particular feature of African *Xoo* is their restricted TALome (*tal* genes repertoire) compared to Asian *Xoo*, with up to 9 and 19 copies respectively. Furthermore, no TALE is conserved between African and Asian strains (Lang et al. 2019), suggesting that they promote different sources of resistance. While many studies have been conducted these last years on Asian *Xoo* strains in order to identify effective resistance sources in rice germplasm, much less is known about African *Xoo* which were discovered more recently. Nonetheless, some works have reported the identification of resistance sources against African *Xoo*. IRBB Near-Isogenic Lines (NILs) introgressed with *Xoo* resistance genes were screened against several African *Xoo* strains. Some of them showed resistance phenotype, indicating the existence of underlying resistance genes that could be useful to control African *Xoo* (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020). Moreover, Djedatin et al. identified, upon screening of a rice germplasm, 20 accessions of *O. glaberrima* highly resistant to the Malian *Xoo* strain MAI1 and two accessions moderately resistant to the Burkinabe *Xoo* strain BAI3. For *O. sativa*, five accessions were identified to be highly resistant to the African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and BAI4 (Djedatin et al. 2011). To provide new resistance sources to breeders, improved varieties such as NERICA (NEw RICE for Africa) were also tested. NERICA varieties are derived from the interspecific crosses between Asian *O. sativa* spp. known for their high yield, and African *O. glaberrima* accessions which are adapted to withstand various local biotic and abiotic stresses. Among the 11 elite rice varieties tested, five of them were shown to control the three African *Xoo* strains assessed in this study, while Asian *Xoo* strains turned out to be virulent on the same varieties (Wonni et al. 2016). Djedatin et al. (2016) identified resistance sources in the elite rice variety IR64 against four African *Xoo* strains, from three different races. Using a population of Recombinant Inbred Lines (RILs) resulting from the cross between the elite variety IR64, highly resistant to African *Xoo* strains, and the susceptible variety Azucena, they were able to identify five quantitative trait loci (QTLs) of resistance on chromosomes 1, 7, 9, 10 and 11. Of these QTLs the one on chromosome 11 is shared by African and Asian *Xoo* strains (Djedatin et al. 2016). Recently, Bossa-Castro et al. (2018) also

mapped several disease resistance QTLs effective against African *Xoo* strains using Multiparent Advanced Generation InterCross (MAGIC) populations for interval mapping (IM) and GWAS analyses. The QTLs of resistance identified were located on most of the 12 chromosomes but not on chromosomes 3, 6, 8 and 9 (Bossa-Castro et al. 2018). Interestingly, the QTL of resistance found on the chromosome 11 which confers resistance to African and Asian *Xoo* strains, seems to be also effective against *Xoc* (Djedatin et al. 2016; Bossa-Castro et al. 2018). More recently, Lachaux et al. shed light on the presence of an *Xa1*-like resistance source effective against African *Xoo* in six *O. sativa* spp. accessions and three NERICA varieties. Besides, the TAL effector TalD from the MAI1 and BAI3 strains was found to act as an avirulent factor on the IR64 variety, highlighting another mechanism of resistance against African *Xoo* (Lachaux et al. preprint).

In this study, in order to identify underlying resistance sources against African *Xoo* strains, populations of RILs of F₁₁ and F₃ generation from the cross between the highly disease resistance elite *indica* variety IR64 and the highly susceptible *japonica* variety Azucena, were used to evidence resistance QTLs by mapping analysis. In a previous study, two resistance loci against African *Xoo* strains were identified on chromosome 7 and 11, located in an interval defined by markers RM481 and RM214 (representing ~10 Mb), and by markers RM224 and RM144 (representing ~1 Mb), respectively, mapped on Nipponbare (Djedatin et al. 2016). Herein, we report on the identification of new loci of resistance against African *Xoo* and the base pairs reduction of the interval of these two previous QTLs on chromosomes 7 and 11. Moreover, we show a correlation between the presence of *talD* and the resistance phenotype conferred by the QTL on chromosome 11 suggesting that TalD-mediated resistance could depend on a gene localized in this QTL.

Generation of RILs from the IR64 x Azucena Population	<i>Xoo</i> strains	Lesion lengths (cm) on		
		IR64	Azucena	RILs
F ₁₁	MAI1	1.6 ± 0.5	16.5 ± 4.7	0.1 to 40
	BAI3	6.9 ± 2.7	22.8 ± 8.3	0.5 to 40
	PXO99 ^A	17.5 ± 2.3	21.0 ± 4.6	0.8 to 38

Table 1. Lesion lengths induced by African *Xoo* on recombinant inbred lines of the F₁₁ generation and their parents.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Results

Combination of two data sets before mapping analyses

Prior starting the analyses, since our data are based on the analysis of an F₁₁ population itself deriving from an F₉ population which was described in previous reports (Djedatin et al 2016), we first considered completing our dataset (80 lines of the IR64 x Azucena F₁₁ population) with Djedatin's data consisting in 148 lines of an IR64 x Azucena F₉ population. When a data for a line family was available in both datasets, we kept our data for subsequent analyses. In contrast, when a data was missing from our dataset and available in Djedatin's, we included Djedatin's data, leading to a total of 159 RILs to be used for our analyses.

Screening of the IR64 x Azucena F₁₁ population with *Xoo* strains

In order to identify resistance sources against the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, 80 F₁₁ lines resulting from a cross between IR64 x Azucena were screened. The average lesion lengths induced by *Xoo* African strains on IR64 and Azucena were respectively of 1.6 cm ± 0.5 and 16.5 cm ± 4.7 with *Xoo* MAI1; and of 6.9 cm ± 2.7 and 22.8 cm ± 8.3 with BAI3. The disease scores of the RILs range widely, from as low as 0.1 cm to as high as 40 cm, and 0.5 cm to 40 cm with *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively (Table 1). Here, the continuous variation of the mean of lesion lengths indicates the existence of several QTLs underlying the segregation of resistance (Fig. 1). Regarding the overall distribution of lesion lengths caused by BAI3 on the population of RILs, there is no concentration of phenotypic value around a particular one. Additionally, as shown in Fig. 2, the density curve of the lesion lengths exhibits for BAI3 an approximately normal distribution with transgressive segregation towards both directions, meaning here that the *Xoo* strain BAI3 is controlled by several minor QTLs of resistance. A contrario for MAI1, the density curve shows a phenotypic concentration around the same value, meaning that one major QTL and some minor ones are likely controlling the resistance to *Xoo* strain MAI1 (Fig. 2). Both parents, IR64 and Azucena, are susceptible to Asian *Xoo* strain PXO99^A with an average lesion length of 17.5 cm ± 2.3 and 21 cm ± 4.6, respectively. The lesion lengths of the RIL population inoculated with PXO99^A range from 0.8 to 38 cm (Table 1), and the continuous variation of lesion means indicates that some resistance to the Asian strain is also controlled by QTLs (Fig. 1). Moreover, the distribution in the RILs population of the lesion lengths caused by PXO99^A does not show a concentration of phenotypic value at the same point, as depicted by the density curve which exhibits an approximately normal distribution with transgressive segregation towards both directions. These data indicate that PXO99^A is controlled by several minor QTLs of resistance (Fig. 2).

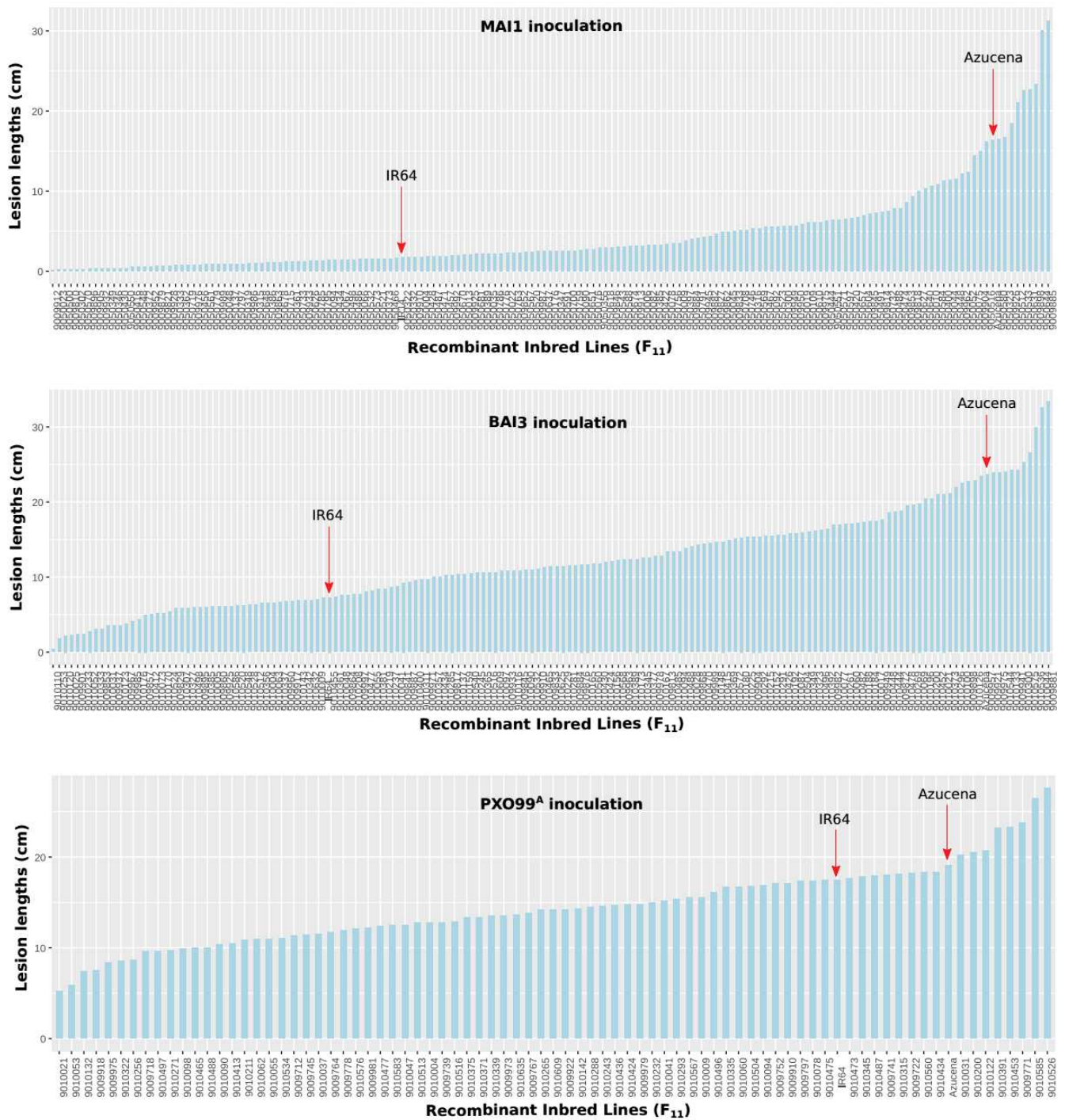


Figure 1. Lesion lengths distribution in the F₁₁ population following inoculation with African and Asian strains of *Xoo*.

Leaves of RILs from the IR64 x Azucena F₁₁ population and of the two control parental varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and with the Asian *Xoo* strain PXO99^A, by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of four measurements of three repetition.

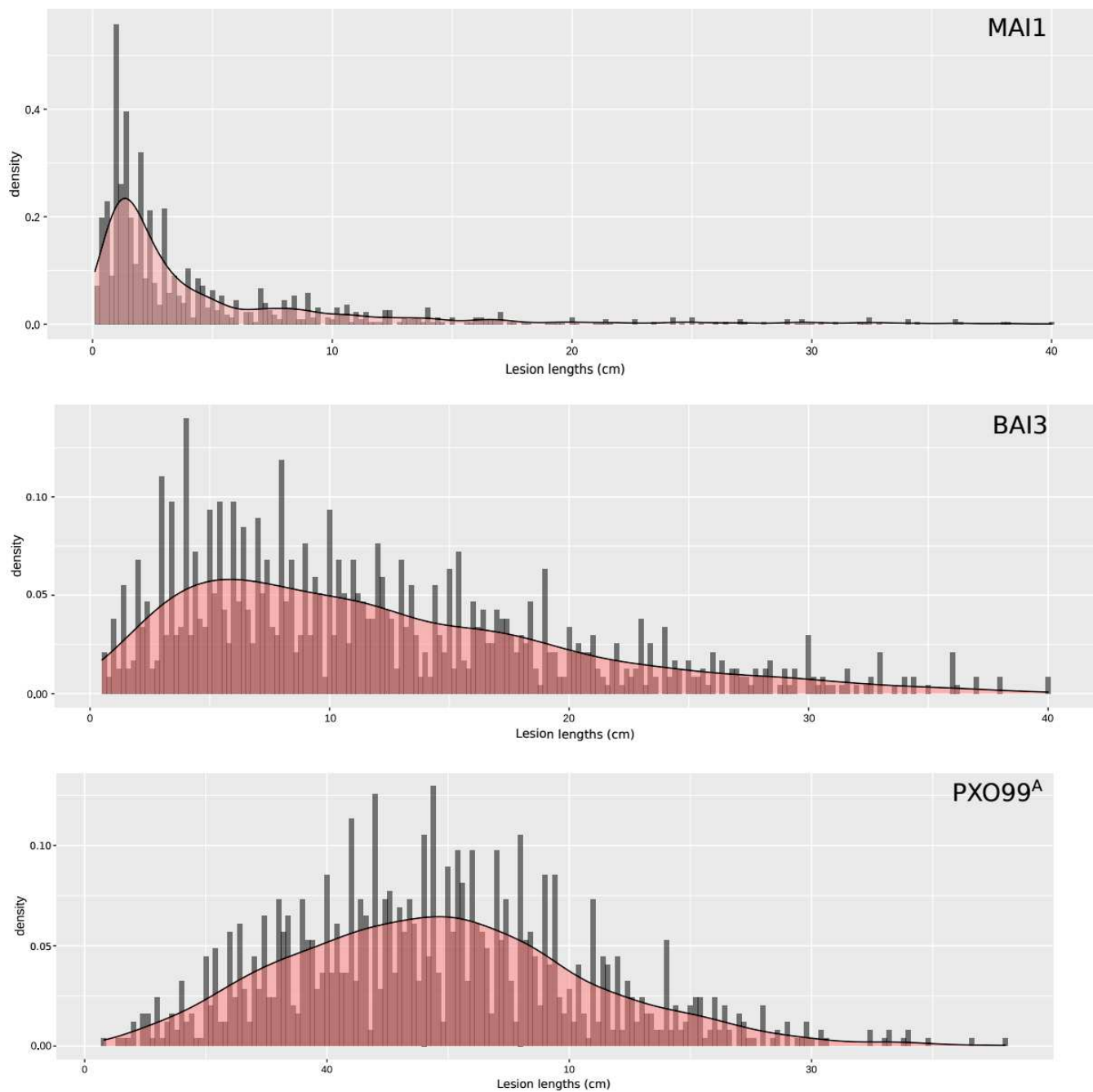


Figure 2. Density curve of the lesion lengths of the F_{11} population following inoculation with African and Asian *Xoo* strains.

Histogram of lesion lengths distribution on the IR64 x Azucena F_{11} population and the rice control varieties IR64 and Azucena, representing the lesion length counts for MAI1, BAI3 and PXO99^A *Xoo* strains. The red curve represents the density of the lesion length counts.

Identification of Resistance Quantitative Trait Loci using SNP markers

The genetic map used in this study for the IR64 x Azucena F₁₁ population was composed of 1 to 1.5 million SNP markers called from the IR64 genome. The imputed collapsed SNP x RILs matrix obtained after removing the SNPs located outside of the recombination breakpoints, ended up with 12,506 SNP markers. The SNPs covered 1492.1 cM of the genome with an average inter-marker interval of 0.119 cM. Analysis of variance (ANOVA) carried out using the MapDisto software (Lorieux 2012), evidenced seven putative QTLs providing resistance against the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and two putative QTLs against the Asian *Xoo* strain PXO99^A (Table 2; Fig. S1). Two of them, *qABB-7* and *qABB-11*, respectively positioned on chromosomes 7 and 11, are explaining a large part of the phenotype variation, and were already reported previously (Djedatin et al., 2016). *qABB-7*, specific to MAI1, is linked to the SNP markers Chr07_6044549 and Chr07_6314584, with a LOD score of 17.7 and a percentage of variance explained (R²) of 36%. *qABB-11*, for its part, is linked to the SNP markers Chr11_30635775 and Chr11_30871520, with a LOD score of 2 and 7.2 for MAI1 and BAI3, respectively. This latter QTL controls 5% and 18.4 % of the phenotypic variation induced by MAI1 and BAI3, respectively (Table 2). The other resistance QTLs evidenced in this study to confer resistance against MAI1 and BAI3 highlighted a more minor effect. Related to the strain PXO99^A, two QTL were evidenced on chromosomes 5 and 9. Additive effect, linked markers, LOD score value and PVE (Percentage of Variance Explained) related to the African and Asian *Xoo* strains are summarized in Table 2. The estimated additive effects from the ANOVA show that these loci derive from the resistant parent IR64, expect for *qABB-8* and *qBB-5* which derive from Azucena. Most importantly, we were able through the use of a great number of markers to decrease the QTL size intervals of *qABB-7* and *qABB-11*, previously identified by Djedatin *et al.* (2016), from 10 Mb to 300 kb, and from 1 Mb to 250 kb, respectively. Previous work reported *qABB-11* to be involved in the resistance against the four following African *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3 (Djedatin et al., 2016). Since these four *Xoo* strains evidence the same QTL, we made the hypothesis that this major resistance QTL might be elicited by a conserved type-3 effector.

Association of *qABB-11* with the presence of TalD

Owed to their importance in the Rice-*Xoo* pathosystem, we first paid attention to TAL effectors repertoires. As shown in Fig. 3, our analysis show that all four strains display a similar set of TALEs clustered in nine groups, including four that are absolutely monomorphic namely TalC, TalD, TalE and TalG. In a previous study, Lachaux et al. reported the role of TalD in the avirulence activity of BAI3 on IR64 (Chapter 1). TalD being highly conserved between the four African *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3 (Fig. 3), we aimed at testing whether this TAL effector could be

<i>Xoo</i> strains	Country of origin	QTL localization: chromosome	QTL name	$-\log_{10}(p)$	LOD score	Closely linked markers	Marker position (cM)	Additive effect	Donor Allele	PVE (%)
MAI1	Mali	3	<i>qABB-3a</i>	3	2.4	Chr03_34450781- Chr03_34491227	146.02	0.03	IR64	5.9
		4	<i>qABB-4</i>	2.7	2.1	Chr04_18387103- Chr04_18407020	40.96	0.03	IR64	5.2
		7	<i>qABB-7</i>	18.5	17.7	Chr07_6044549- Chr07_6314584	37.92	0.7	IR64	36
		11	<i>qABB-11</i>	2.6	2	Chr11_30635775- Chr11_30871520	87.15	0.03	IR64	5
BAI3	Burkina Faso	3	<i>qABB-3b</i>	3.3	2.7	Chr03_3985130- Chr03_4006689	22.87	0.04	IR64	7.3
		8	<i>qABB-8</i>	3	2.4	Chr08_27811802- Chr08_27830287	93.85	-0.04	Azucena	6.5
		11	<i>qABB-11</i>	7.9	7.2	Chr11_30635775- Chr11_30871520	87.15	0.07	IR64	18.4
PXO99 ^A	Philippines	5	<i>qBB-5</i>	3.9	3.2	Chr05_25230006 - Chr05_25230041	93.89	-1.8	Azucena	16.3
		9	<i>qBB-9</i>	4.5	3.9	Chr09_19297877- Chr09_19665133	57.65	1.9	IR64	19.1

Table 2. List of QTL revealed by the inoculation of African and Asian *Xoo* strains on the F₁₁ IR64 x Azucena population.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

$-\log_{10}(p)$: represent the logarithm of the p-value

LOD : Logarithm of odds

PVE : Percentage of Variance Explained

associated with the resistance conferred by *qABB-11* towards the tested African *Xoo*. To this end, we searched for RILs in the F₁₁ population that would be carrying the IR64 alleles at *qABB-11* while maintaining Azucena alleles at the level of the other QTLs targeted by BAI3 and MAI1. Unfortunately, this combination was not found in our population, so we selected lines that were IR64 at *qABB-11*, Azucena at *qABB-4* and *qABB-7*, and Azucena or IR64 at *qABB-3b* and *qABB-8*. Only three RILs corresponding to most of our criteria were available, and were named K11_9009985, K11_9010412 and K11_9010488. As shown in Fig. 4, the selected lines and control plants were next leaf-clip inoculated with the wild-type *Xoo* BAI3, and the BAI3 Δ *talD* derivative mutant strain carrying either an empty vector (EV) or complemented with TalD (*ptalD*). Notably, as expected the three strains produced WT-like symptoms on Azucena with lesion lengths close to 25 cm, indicating that the inactivation of *talD* did not affect BAI3 virulence, as previously seen in Chapter 1.

BAI3 promoted reduced lesions on the two RILs K11_9009985 and K11_9010412, probably because these RILs harbor two resistance loci to BAI3, either *qABB-8* and *qABB-11*, or *qABB-3b* and *qABB-11*, respectively. In contrast, an increase of lesion lengths was observed on K11_9010488, potentially because only the locus of resistance, *qABB-11*, is present in this line (Fig. 4). These results suggest that the combination of *qABB-11* with other resistance loci, such as *qABB-3b* or *qABB-8*, is required for optimal resistance in IR64.

When *talD* was inactivated in the mutant strain BAI3 Δ *talD*, an increase in lesion lengths is observed to certain extent upon the inoculation of IR64, but more strikingly when the RILs K11_9009985 and K11_9010412 were challenged (Fig. 4). *qABB-11* being the only QTL common to IR64 and the two RILs, this raised the hypothesis that TalD might be involved in triggering the *qABB-11* resistance. As a matter of fact, complementation of BAI3 Δ *talD* with a plasmid-borne copy of *talD* restored the capacity of the strain to trigger resistance on IR64, K11_9009985 and K11_9010412 (Fig. 4). Elevated resistance was also observed upon inoculation of K11_9010488 although it only has *qABB-11*. We assume here that the overexpression of *talD* is sufficient to promote such phenotype. Overall, these observations suggest that the locus *qABB-11* is connected to the presence of TalD, but that this locus is not sufficient to promote resistance if it is not induced in combination with either *qABB-3b* or *qABB-8*.

Strains of *Xoo* with RVD variations in TalD are virulent on IR64

Upon a comparative analysis of the TALomes of a dozen of African *Xoo*, Doucouré et al. (2018) showed some strains to encode a new variant of the TalD group that was previously shown to be conserved across MAI1, BAI3, and CFBP1947. In order to test if this one polymorphic RVD variation could affect *Xoo* TalD-dependent avirulence activity on IR64, six Malian *Xoo* strains

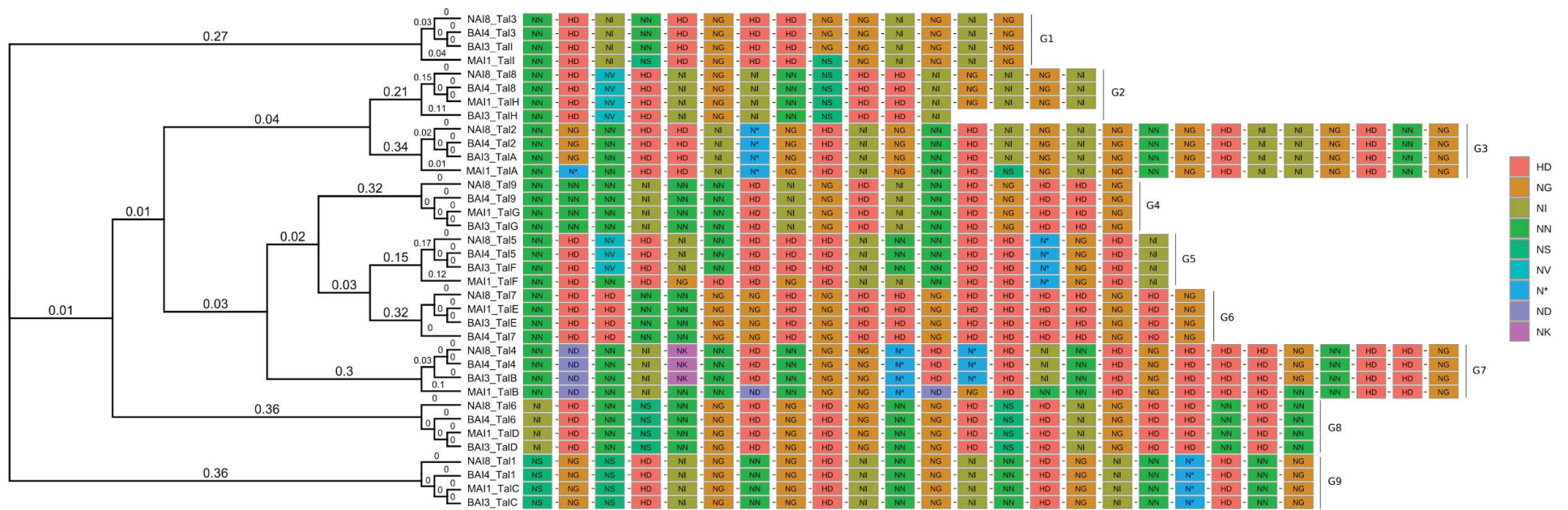


Figure 3. RVD sequences comparison of the TALome of *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3.

FuncTAL was used to estimate distances based on the predicted TALE affinity. The dendrogram on the left shows estimated relationships, where numbers represent the distance between the position weight matrices calculated for each TALE. Central alignments depict RVD strings for each TALE variant, where each box represents a repeat with its RVD. Boxes are colored according to RVD type. Labels on the right indicate the different groups of TALEs.

harboring the TalD new variant were inoculated on IR64 and the Azucena susceptible control (Fig. 5; Table S1). Interestingly our results show that IR64 is susceptible to strains MAI106, MAI145 and MAI99, characterized by an average lesion length ranging from 12 to 16 cm. Two other strains, MAI73 and MAI95 were also able to cause lesions that were significantly longer than the ones caused by *Xoo* MAI1 on IR64. Although still preliminary, these results suggest that a variation in TalD RVDs may affect its avirulence activity. Moreover, in a systematic RFLP-based analysis of the TALome of about 200 *Xoo* strains from Burkina Faso (Diallo et al., in prep), the strain BAI192 was found to be lacking a *talD*-RFLP band and therefore included in our assay. Interestingly, this strain remained fully avirulent on IR64 (Fig. 5), suggesting that other signals in this strain may be at play to trigger resistance in this variety.

Fine mapping of the QTL intervals on chromosomes 7 and 11

In addition to the IR64 x Azucena F₁₁ population, another population of segregating lines composed of 542 F_{2:3} families also deriving from the cross between IR64 and Azucena was made available to us (CIAT, Colombia). The genetic map used for these F_{2:3} families was composed of 1 to 1.5 million SNP markers called from the Nipponbare genome. The imputed collapsed SNP x F_{2:3} families matrix obtained after removing the SNPs located outside of the recombination breakpoints, ended up with 15,745 SNP markers. The SNPs covered 1467.5 cM of the genome with an average inter-marker interval of 0.093 cM. Of these families, 19 were selected owed to the genotype of the corresponding F₂ that exhibited signs of recombination within QTLs *qABB-11* and *qABB-7*. Hence, they were subjected to pathogenicity assays using MAI1 and BAI3 *Xoo* strains.

The average lesion lengths induced by *Xoo* African strains on IR64 and Azucena were respectively of 0.75 cm ± 0.17 and 23.9 cm ± 4.95 with MAI1; and of 5.37 cm ± 3.02 and 28.56 cm ± 5.85 with BAI3. The disease scores of the F₃ families ranged widely, from as low as 0.2 cm to as high as 36.2 cm with MAI1, and from 1 to 40 cm with BAI3 (Table 3).

Twelve and seven families respectively segregating in *qABB-7* and *qABB-11*, as well as the two control varieties IR64 and Azucena, were inoculated with MAI1 and BAI3. Regarding *qABB-7*, the use of the F₃ lines was not helpful to downsize the QTL interval, leaving us with a 300 kb interval. With regard to the seven F₃ families segregating in *qABB-11*, we first considered the recombinants displaying Azucena allele in the QTL interval (left side of Fig. 6A), and assumed that if the resistance source to BAI3 is at the same location of these Azucena alleles, there should be no resistant plants in the F₃. Moreover, as the genotype of these lines for *qABB-8* is the same, this QTL can be ignored for now. These four families all displayed at least four F₃ resistant plants (lesion lengths < 10 cm), meaning that the resistance source is not located where the Azucena alleles are. Plus, as the distribution of lesion lengths in the F₃ progeny is not significantly different between

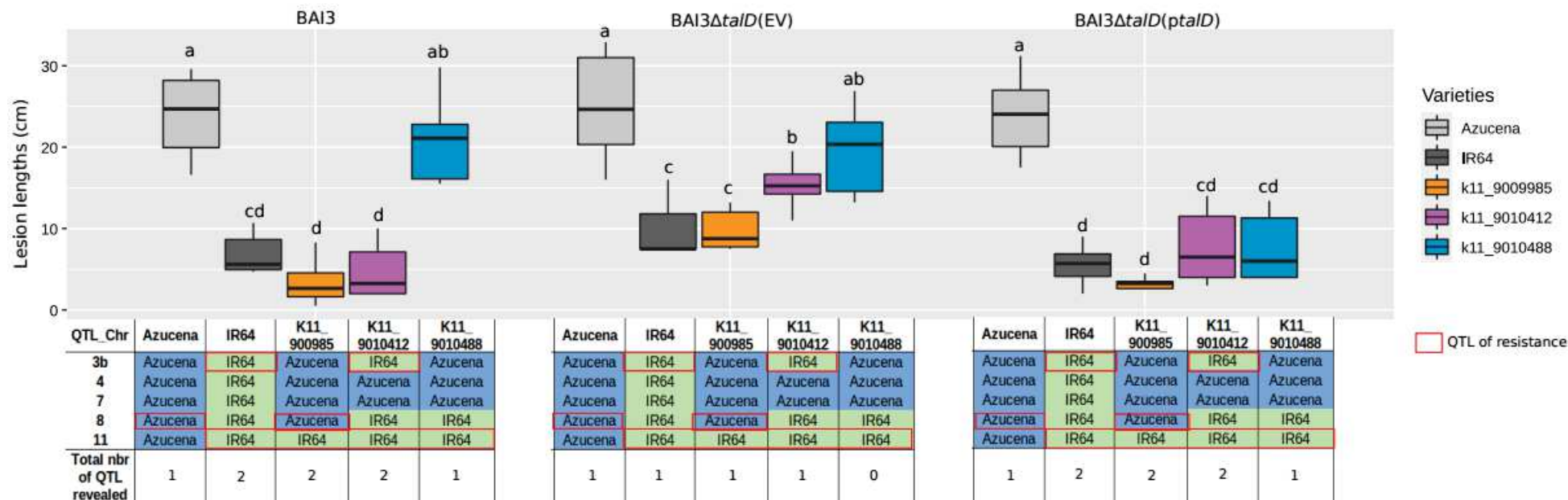


Figure 4. Linkage of an avirulent TALE to the QTL on chromosome 11 conferring resistance to African *Xoo* strains.

Leaves of three RILs from the IR64 x Azucena F_{11} population, selected to be IR64 at the genetic level on at least the QTL on chromosome 11, and of the two control varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3, and with the mutant strain BAI3 Δ talD either carrying an empty vector (EV) or complemented with *talD* (*ptalD*), by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Statistical tests were realised under R software using the non-parametric test KRUSKAL-WALLIS and DUNN TEST. Below, the tables represent the genotype of each QTL for each RIL and the two control varieties, as well as the total number of potentially induced QTL based on the inoculated strain. Highlighted with a red box the presence of resistance QTL in the genome of each RIL and control varieties.

these four families, the two markers with different alleles in the 3009771 F₂ cannot be considered to reduce the QTL interval size. Regarding these results, the size of the QTL interval can be reduced to the six first markers (Fig. 6B).

Next, we looked at the families with IR64 in the QTL interval (right side of Fig. 6A). Comparing the families 3009540 and 3009548 displaying contrasted phenotypes of resistance and susceptibility respectively, the F₂s all share the same allelic content at the QTL on chromosome 3. Moreover, the QTL on chromosome 8 is either completely IR64 – so is not containing the resistance source as it is provided by the Azucena parent – for 3009540 F₂ or heterozygous (containing one copy of the allele with the resistance source) for 3009548 F₂. Regarding the QTL on chromosome 11 which is recombinant, the 3009548 F₂ has eight additional heterozygous markers in comparison with 3009540 F₂. As the QTL on chromosome 3 has a homogeneous allelic content among families, we can ignore it and focus on the QTLs on chromosomes 8 and 11. In the 3009540 F₃s, we observe many resistant plants and some susceptible plants, while in the 3009548 family very few plants are resistant and many more are susceptible. Here we observe a loss of resistance in correlation with the increase of heterozygous markers in the QTL on chromosome 11. Therefore, we can assume that the source of resistance at the *qABB-11* QTL is located within the interval defined by the eight markers in 3009548 that differ from 3009540. By intersecting the results obtained with the recombinant families with Azucena and those with IR64, we could narrow the QTL interval down to 25 kb ranging from Mrk 3 to Mrk 6 (Fig. 6B).

Synteny of QTL intervals and gene annotation

The genomic region of *qABB-7*, which is of 300 kb, and of *qABB-11*, initially of 250 kb, were aligned between the resistant and susceptible variety through the use of the Synteny View tool of the Rice Genome Hub Platform (Fig. S2, (Droc et al. 2019)). Despite the fact these regions are syntenic and include homologous genes, the Azucena genome presents more genes in these intervals than the IR64 genome. The interval of *qABB-7* displays 52 genes for Azucena while for IR64 there are 39 genes, and for *qABB-11*, 148 genes are found for Azucena, in contrast to 108 for IR64 (Table S2). Regarding the reduced interval of 25 kb for *qABB-11*, only four candidate genes could be reported, G1 to G4, each respectively coding for an RNA recognition domain-containing protein, a RHOMBOID-like protein, an expressed protein, and a GRAS domain-containing protein (Fig. 6B). The amino-acid sequence of each gene was aligned between the genome of IR64, Azucena and Nipponbare rice varieties with the program Clustal Omega (1.2.4). The protein encoded by G2 is the only one which is completely conserved, and the protein encoded by G1 is the one with most differences, between the three genomes (Fig. S3). On the opposite, from a promoter point of view, considering the 1000 bp upstream of these four genes, the G2 promoter is the less conserved,

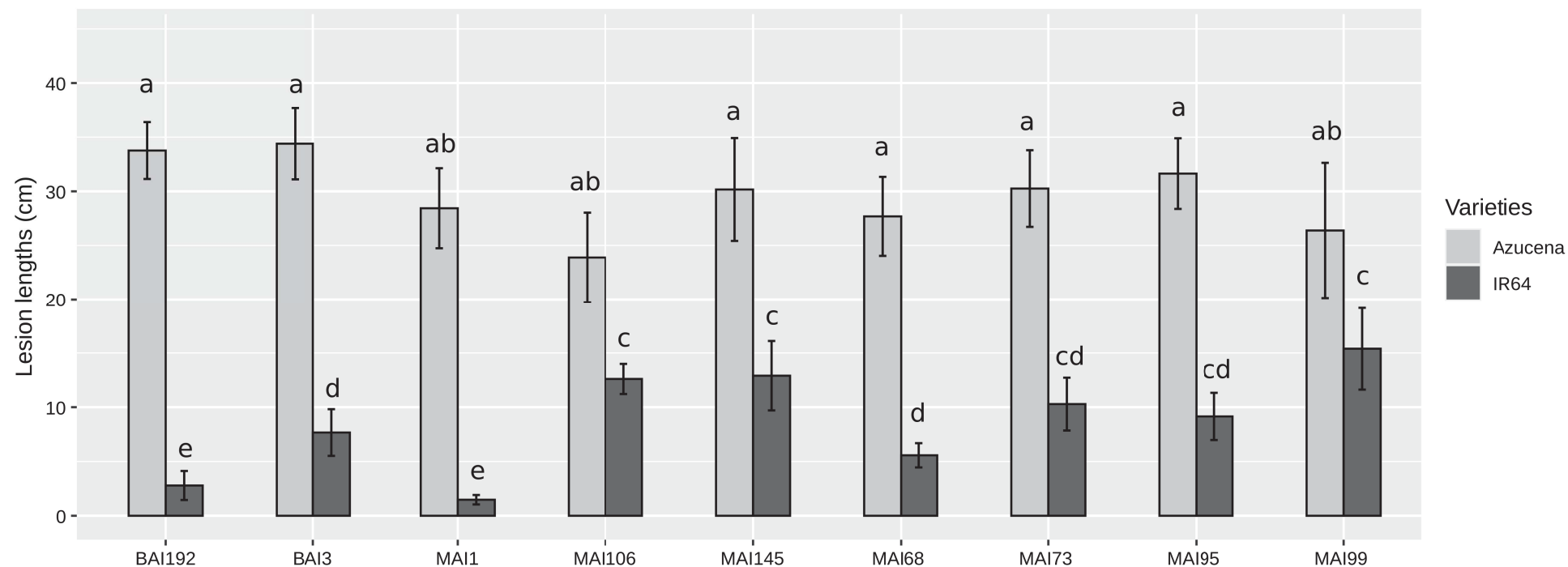


Figure 5. Evaluation of the resistance of IR64 upon inoculation of a set of African *Xoo* strains displaying diverse *talD* allelic variants.

Leaves of the rice varieties IR64 and Azucena were leaf-clip inoculated with the reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and a set of relevant African *Xoo* strains (Table S1). Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Statistical tests were realized under R software using the non-parametric test KRUSKAL-WALLIS and DUNN TEST.

Generation of RILs from the IR64 x Azucena Population	<i>Xoo</i> strains	Lesion lengths (cm) on		
		IR64	Azucena	RILs
F ₃	MAI1	0.8 ± 0.2	23.9 ± 4.9	0.2 to 36.2
	BAI3	5.4 ± 3.0	28.6 ± 5.9	1 to 40

Table 3. Lesion lengths induced by African *Xoo* on recombinant inbred lines of the F₃ generation and their parents.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

between IR64 and Azucena or Nipponbare, with 25% of nucleotide polymorphism, and the G1 promoter is the most conserved with only 1% of nucleotide polymorphism. Regarding the G3 and G4 promoters, 6% and 4% of nucleotide polymorphism is observed, respectively.

Discussion

In this study, using a high number of SNP markers in the IR64 genome (12,506 SNP markers) and analysing a F₁₁ and a F_{2:3} IR64 X Azucena populations, we were able to down size the previously identified QTL intervals of *qABB-7* and *qABB-11* (Djedatin *et al.* 2016), from 10 Mb to 300 kb, and from 1 Mb to 25 kb, respectively. Moreover, the LOD score of these QTLs were increased from 16 to 17.7 and from 5.7 to 7.2, for *qABB-7* (MAI1) and *qABB-11* (BAI3) respectively. The increase of LOD score values reinforces the reliability of the position of these QTLs, and having downsized their interval we can assume that the underlying resistance loci are very close to be discovered. Regarding the resistance loci revealed by MAI1, two new QTLs, *qABB-3a* and *qABB-4*, were identified in the IR64 parent in this study. Unfortunately, among the QTLs already reported by Djedatin *et al.* (2016), the one on chromosome 1 explaining 13.4% of the variance observed and with a LOD score of 5, was not found even if the threshold for the LOD score was lowered to 2. It is possible that the reduced number of SSR markers (226) used in this study, compared to the 12,506 SNP markers in ours, has led to the identification of a false positive.

In this work, shared, pathogen lineage-specific, but also novel QTLs of resistance to BLB were highlighted. Indeed, in previous work Djedatin *et al.* also reported the identification of *qBB-8* (Azucena donor) as effective against the Philippine *Xoo* strain PXO86, which co-localizes with *qABB-8*, the QTL that confers resistance to the African *Xoo* strain BAI3 on chromosome 8. In the same way, herein *qBB-9* that confers resistance to the Asian *Xoo* strain PXO99^A co-localizes with *qABB-9* (IR64 donor), a previously identified QTL effective against the African *Xoo* strain NAI8. Despite the fact that African *Xoo* strains are less studied than the Asian ones, and hence more resistance sources are known against the latter, our study sheds light on novel resistance sources against African *Xoo* that could also be efficient against Asian *Xoo*. These results are a significant step forward in the search for new resistance sources against African *Xoo*, and suggest that Asian and African *Xoo* share more than virulence targets, such as the *OsSWEET* genes, and induce some resistance mechanisms in common.

Among the TALEs of African *Xoo* used in this study, TalD originally thought to be monomorphic (Tran *et al.* 2018), appeared to be variable among some Malian strains with one identified polymorphic RVD (Doucouré *et al.* 2018), or simply missing as in strain BAI192 (Diallo *et al.*, in

Figure 6. Fine mapping of the QTL interval on chromosome 11.

(A) Leaves of seven F_{2:3} families: IR64 x Azucena population, selected to be recombinant in the interval of QTL on chromosome 11, and of the two control varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Below, the tables represent the genotype of the F₂ parents at each marker position of each QTL evidence by BAI3, *qABB-11*, *qABB-3b* and *qABB-8* for the seven families and the two control varieties IR64 and Azucena. Boxes in green with an "R" represent resistant alleles, in light red with an "S" represent susceptible alleles, and in yellow with an "H" represent heterozygous alleles. (B) a) Physical map of the interval of *qABB-11*, based on the reference genome of Nipponbare. Represented markers are not at equal distance in base pair from each other. b) Reduction of the physical distance of the QTL interval through the use of the F_{2:3} families recombinant with Azucena. c) Reduction of the physical distance of the QTL interval through the use of the F_{2:3} families recombinant with IR64. d) By intersecting the results obtained with the recombinant families with Azucena and these with IR64, the QTL interval is narrowed to 25 kb ranging from Mrk 3 to Mrk 6. e) Predicted genes (G1 to G4) laying in the 25 kb overlapped region in the Nipponbare genome.

prep). Recombination has been shown to be one of the most common pathways in the evolution of *tal* genes (Denancé et al., 2018; Erkes et al., 2017; Ruh et al., 2017), and since no data have been reported on the virulence activity of TalD to date, we hypothesize that this effector is conserved in *Xoo* to promote *tal* genetic diversity through recombination events. The common predicted targets between TalD of MAI1 and BAI3, and TalD of other Malian strains were evaluated among the 500 first targets found by Talvez software (Perez-Quintero et al. 2013) in the Nipponbare genome, and 80% of them are conserved. If it appears that the resistance conferred by TalD of MAI1 and BAI3 is activation domain (AD)-dependent and hence based on the induction of an *E* gene, it means that 20% of candidate genes in *qABB-11*, are specific to the TalD version of MAI1/BAI3. Based on this hypothesis, the list of candidate *E* genes in *qABB-11* could be drastically reduced.

In this study, through the use of F₁₁ and F_{2:3} IR64 x Azucena populations, QTLs of resistance were evidenced and their intervals reduced. Moreover, we have shown that TalD may be involved in the elicitation of some resistance responses implying *qABB-11* locus. We could therefore use the DNA-binding predictability of TALEs to identify a potential *E* gene in *qABB-11*, but also for *qABB-7*. Therefore, combining fine mapping with others approaches, as transcriptomics and bioinformatic EBE prediction programs to identify resistance genes would be interesting, as already done in the past. For example recently, Luo *et al.* combined fine mapping approach with RNA sequencing and gene editing approaches, leading to the isolation of the *E* gene *Xa7* (Luo et al. 2021).

Previous work by Djedatin et al. (2016), revealed that *qABB-11*, which is effective against the four African *Xoo* strains MAI1, BAI3, NAI8 and BAI4, partially overlaps with one QTL that confers resistance to the Asian *Xoo* strain PXO61, containing the known *R* gene *Xa4* (Djedatin et al., 2016). Through the screening of an IR24 x IRBB4 F₂ population with the *Xoo* strains PXO61 and BAI3, Djedatin et al. (2016) show that the potential gene promoting resistance against BAI3 is recessive, unlike *Xa4* which is dominant against PXO61, which would then clarify there are two different *R* genes in this QTL.

Previously we shown that two QTL, *qABB-11* and *qABB-3b*, are revealed by BAI3 in IR64. If there are some interactions between these two loci, the screening of the IR24 x IRBB4 population by Djedatin et al. would not have taken them into account because neither IR24 nor IRBB4 contains the resistance locus *qABB-3b*, explaining why the segregation ratio found for lines inoculated with BAI3 suggests the involvement of a recessive gene at the locus *qABB-11* (Djedatin et al., 2016). Nonetheless, the QTL interactions between *qABB-11* and *qABB-3b* are still unknown. With that in mind, the screening of an IR64 x Azucena F_{2:3} population with BAI3 seemed more appropriate to shed light on the potential interactions between these QTLs.

Regarding the experiment with the three F₁₁ lines used to evaluate the role of TalD in *qABB-11* resistance, the inoculation of the BAI3 Δ *talD* mutant complemented with *talD* upon the line 9010488 caused resistance. While the inoculation of the wild-type strain BAI3 on this same line, containing only the resistance QTL *qABB-11*, promoted disease. Herein when *talD* was over-expressed a dose effect was observed promoting resistance on this line. With that in mind, we assume that the resistance phenotype depending on *qABB-11*, is related to the amount of resistance allele, meaning that plants which are heterozygous at this QTL display an intermediate phenotype between the resistant and susceptible parent.

Regarding the four candidate genes in the 25 kb QTL interval on chromosome 11, the protein encoded by G1, an RNA recognition domain-containing protein, seems to be very different between the resistant and susceptible varieties, IR64 and Azucena or Nipponbare, respectively. Recently an RRM (RNA-recognition motif) protein was identified to promote rice resistance to blast disease, when associated with an NLR protein. When present together, these two proteins bind DNA and function as unconventional transcription factors at the promoters of the defense genes *OsWAK14* and *OsPAL1* (Zhai et al. 2019). Furthermore, in *Arabidopsis thaliana* a putative RNA binding protein was reported to positively regulate salicylic acid-mediated immunity through the inoculation of *P. syringae* pv. *tomato* (Qi et al. 2010). In this light, the G1 gene holds promise as a novel type of BLB resistance gene.

Conclusions & Perspectives

In this study we report the identification of shared, specific and novel resistance QTLs to African and Asian *Xoo* strains. Comparative analysis of the TALome in a diversity of African *Xoo* strains and phenotypic characterization allowed to correlate the resistance conferred by the QTL on chromosome 11, *qABB-11*, to the presence of TalD in BAI3. To go further, transcriptomic analyses of rice challenged with the wild-type strains MAI1 and BAI3, and with the mutant derivative strain BAI3 Δ *talD* transformed with an empty vector or complemented with *talD*, could be undertaken. These analyses would help to first, identify and confirm potential candidate executor genes in the QTL on chromosome 11, and on the other hand to evidence common and specific pathways of resistance in IR64 induced by MAI1 and BAI3.

Material and Methods

Bacterial strains and growth conditions

The *Xoo* strains used in this study are listed in the Table S1. *Xoo* strains were cultivated at 28°C on PSA medium (10 g peptone, 10 g sucrose, 1 g glutamic acid, 16 g agar, l⁻¹ H₂O). Rifampicin, kanamycin and gentamicin were added when appropriate to the medium at a final concentration of 100 µg.ml⁻¹ for each.

Mapping plant populations and growth conditions

The reference mapping population used to identify and map the BLB resistance QTLs consisted in 210 recombinant inbred lines (RILs) of F₁₁ generation from the cross between the *indica* cultivar IR64 (resistant parent) and the tropical *japonica* Azucena landrace (susceptible parent). This population derives from the IR64 x Azucena F₈ population developed by IRD (France), which was advanced to F₁₁ and used as one of the 10 sub-populations of a Nested Association Mapping (NAM) design (Fragoso et al., 2017). The second mapping population, used to reduce the size of the QTLs on chromosome 7 and 11, consisted in 542 F_{2:3} families resulting from an F₁ hybrid between IR64 and Azucena parents. All plant experiments were performed under greenhouse conditions under cycles of 12 h of light at 28°C and 80% relative humidity (RH) and 12 h of dark at 25°C and 70% RH.

Plant inoculations

Leaves of 5-week-old plants were inoculated by leaf-clipping with a bacterial suspension of an optical density at 600 nm (OD₆₀₀) of 0.2. At least three and eight plants of each line, and of IR64 and Azucena, respectively, were inoculated and lesion lengths were scored 15 days post inoculation (dpi). The experiments were reproduced three times with the mapping populations of F₁₁ and F₃ generation, and one time for the screening of African *Xoo* strains on IR64 and Azucena.

Statistical analysis

A genetic linkage map comprising 12,506 SNP markers and constructed from the IR64 x Azucena F₁₁ population was used for the mapping of resistance QTLs to *Xoo*. A preliminary QTL analysis was carried using analysis of variance (F-test), with marker genotypes as the factors, using MapDisto v. 2.1 software (Lorieux 2012). For subsequent QTL analyses, data files were prepared using the Export map and data function of MapDisto. Analyses of distribution of the phenotypic traits as well as QTL detection were performed using the Qgene v. 4.4.0 program (Nelson 2005, <http://www.qgene.org>) and QTL IciMapping v. 4.2 program (Meng et al., 2015). Different methods were compared such as Single-marker regression (SMR), Simple interval mapping (SIM), and

Inclusive Composite interval mapping (ICIM). For ICIM, a stepwise regression cofactor selection was used. The LOD score statistic was used for all methods in order to make the results comparable. Empirical thresholds to declare presence of a QTL were obtained using the resampling by permutation method, performing 10,000 (SMR) or 1,000 (ICIM) iterations for each trait/chromosome combination (log-likelihood of odds (LOD) score of 2.5).

References

- Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- Bossa-Castro AM, Tekete C, Raghavan C, et al (2018) Allelic variation for broad-spectrum resistance and susceptibility to bacterial pathogens identified in a rice MAGIC population. *Plant Biotechnol J* 16:1559–1568. <https://doi.org/10.1111/pbi.12895>
- Djedatin G, Ndjondjop MN, Mathieu T, et al (2011) Evaluation of African cultivated rice *Oryza glaberrima* for resistance to bacterial blight. *Plant Dis* 95:441–447. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0558>
- Djedatin G, Ndjondjop MN, Sanni A, et al (2016) Identification of novel major and minor QTLs associated with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (African strains) resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice* 9:. <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0090-9>
- Droc G, Dereeper A, Ruiz M, et al (2019) The south green rice genome hub.
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Huang S, Antony G, Li T, 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. <https://doi.org/10.1111/TPJ.13164>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Jiang N, Yan J, Liang Y, et al (2020) Resistance Genes and their Interactions with Bacterial Blight/Leaf Streak Pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in Rice (*Oryza sativa* L.)—an Updated Review. *Rice* 13:. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0358-y>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>

- Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Lorieux M (2012) MapDisto: Fast and efficient computation of genetic linkage maps. *Mol Breed* 30:1231–1235. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9706-y>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Mew TW (1992) Changes in Race Frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Response to Rice Cultivars Planted in the Philippines. *Plant Dis* 76:1029. <https://doi.org/10.1094/PD-76-1029>
- Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698. <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>
- Qi Y, Tsuda K, Joe A, et al (2010) A putative RNA-binding protein positively regulates salicylic acid-mediated immunity in *Arabidopsis*. *Mol Plant-Microbe Interact* 23:1573–1583. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-10-0106>
- Quibod IL, Atieza-Grande G, Oreiro EG, et al (2020) The Green Revolution shaped the population structure of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *ISME J* 14:492–505. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0545-2>
- Römer P, Recht S, Strauß T, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03217.X>
- Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>

- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Vera Cruz C, Leach JE (2012) Controlling rice bacterial blight in Africa: Needs and prospects. *J Biotechnol* 159:320–328. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.09.020>
- Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>
- Wonni I, Hutin M, Ouédraogo L, et al (2016) Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa. *Rice Res Open Access* 4:1–8. <https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Zhai K, Deng Y, Liang D, et al (2019) RRM Transcription Factors Interact with NLRs and Regulate Broad-Spectrum Blast Resistance in Rice. *Mol Cell* 74:996-1009.e7. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2019.03.013>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>

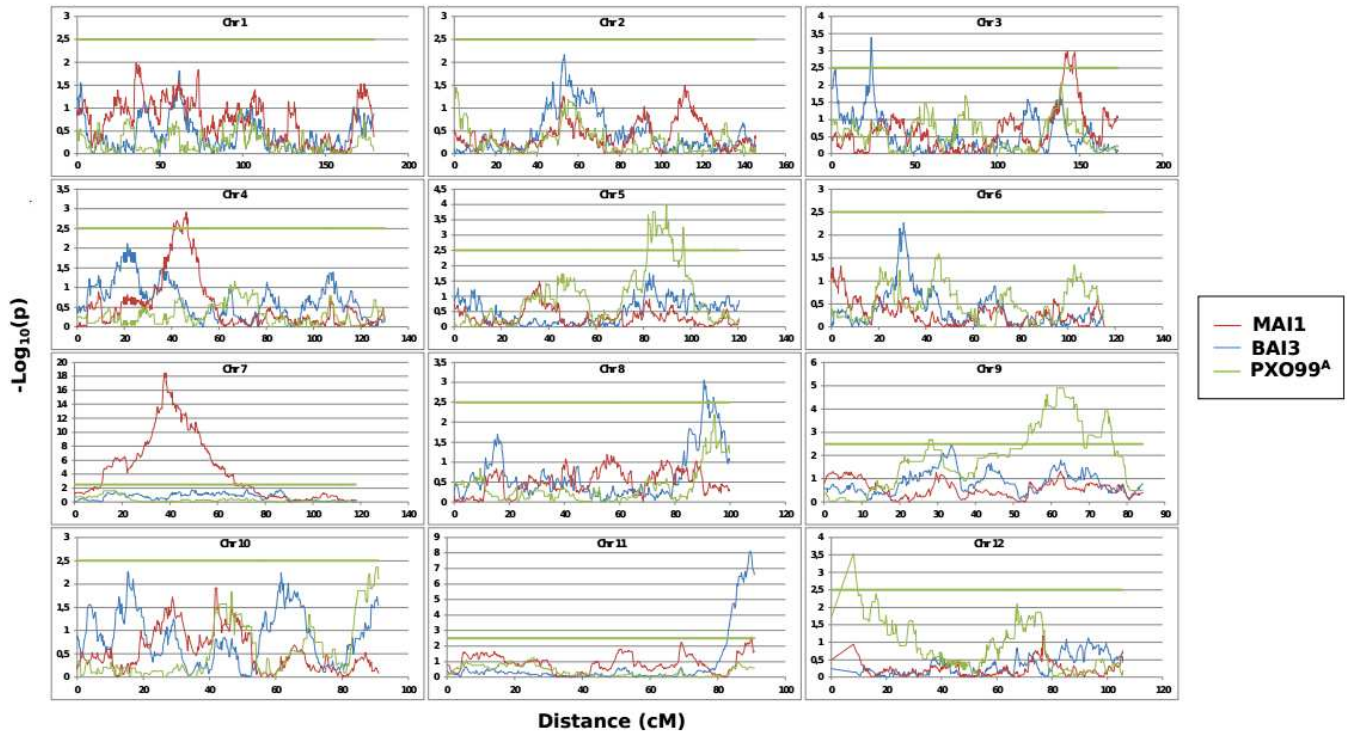


Figure S1. Graphic representation of the QTL peaks revealed by the inoculation of MAI1, BAI3 and PXO99^A.

Representation of the QTL peaks, for MAI1, BAI3 and PXO99^A *Xoo* strains, in $-\text{Log}_{10}(p)$ over the twelve chromosomes in centiMorgan (cM). The green line represents the threshold of 2.5 for QTL detection.

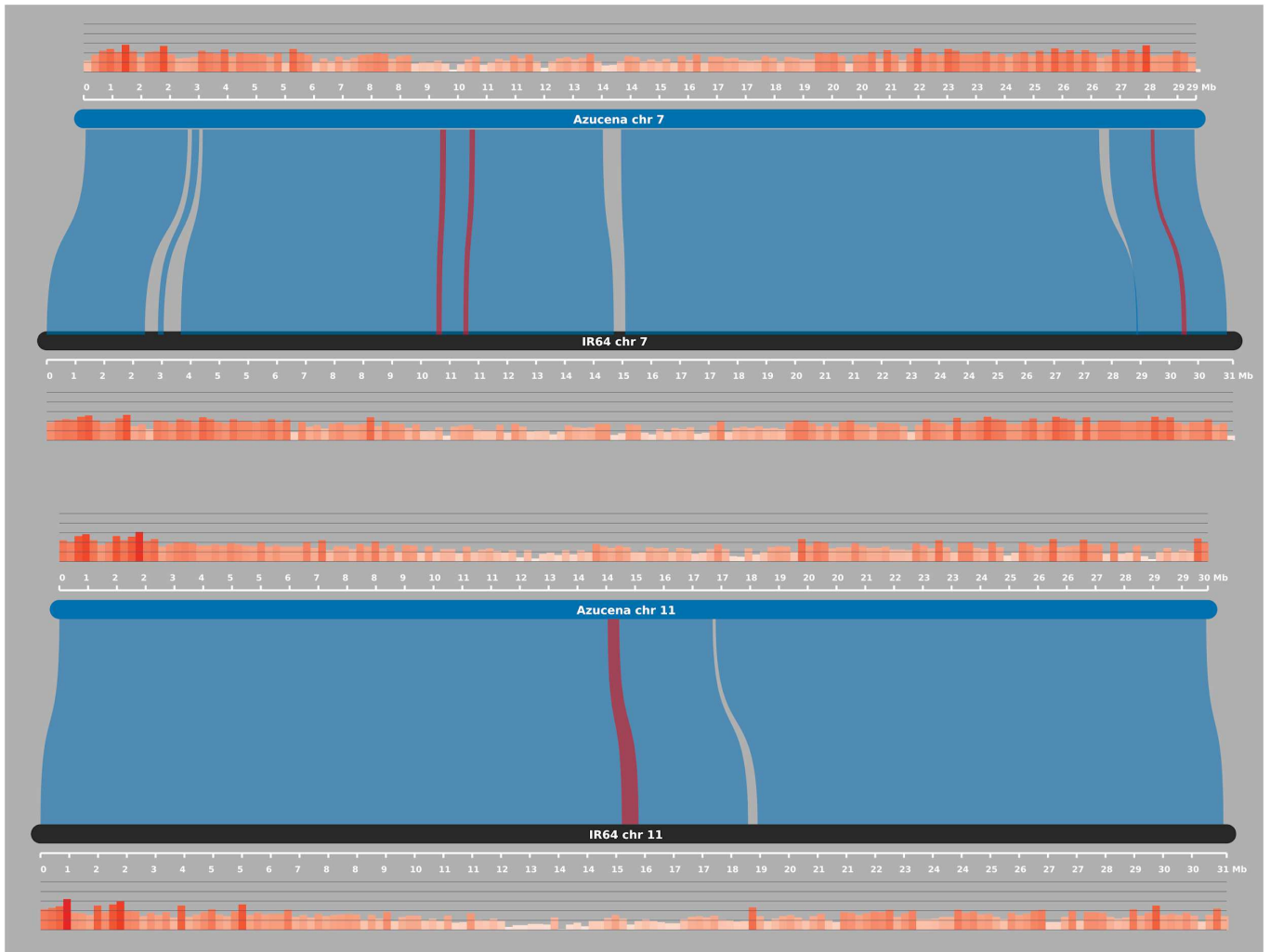


Figure S2. Synteny of chromosomes 7 and 11 between Azucena and IR64.

Synteny Viewer (Rice Genome Hub platform; Droc et al. 2019) was used to compare the synteny of the chromosomes a) 7 and b) 11, between the rice varieties IR64 and Azucena. The chromosomes in blue and grey represent the Azucena and IR64 chromosomes, respectively. Aligned regions in blue and red are regular and reversed regions, respectively. Scale and histogram bars above and below each chromosome represent the length in Mb and the gene density along the chromosome, respectively.

IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCADKDEGAASLVFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCADKDEGAASLVFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCADKDEGAASLVFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP	60 60 60	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	-MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT	59 56 56
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMNRKMLSGREISVAFVOTRKRPEE VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMNRKMLSGREISVAFVOTRKRPEE VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMNRKMLSGREISVAFVOTRKRPEE	120 120 120	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	SSPDSTGEPSSRVIIGSAIGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPDNDVGLPITLRRRRR SSPDSTGEPSSRVIIGSAIGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPDNDVGLPITLRRRRR SSPDSTGEPSSRVIIGSAIGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPDNDVGLPITLRRRRR	119 116 116
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRSYPKPKYKRDQYADIGRRLLHLV5 MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRSYPKPKYKRDQYADIGRRLLHLV5 MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRSYPKPKYKRDQYADIGRRLLHLV5	180 180 180	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	LLLDPLIRVTGLVAPG5VPRWIGCQACPSRRCIWCVESTSCRCRRHRPPSPCSRLAEGK LLLDPLIRVTGLVAPG5VPRWIGCQACPSRRCIWCVESTSCRCRRHRPPSPCSRLAEGK LLLDPLIRVTGLVAPG5VPRWIGCQACPSRRCIWCVESTSCRCRRHRPPSPCSRLAEGK	179 155 155
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	D--PGLCAGHPGHLQGNLILAHVPIILFISMTLEHGHALLPQEGKMTSMLPRGRS SERPWALCRSPRSPGQ5-----HSRSYSRSHSLHLDH-----ARTRSCSPAGRQ SERPWALCRSPRSPGQ5-----HSRSYSRSHSLHLDH-----ARTRSCSPAGRQ	237 228 228	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	RKRERGG 186 ----- 155 ----- 155	
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	TKQN-----H-----QDR-QKDDMI CADPILLINIMNARMITMVMRHLRMLVSDPL DDQYASPORKEHQTKSSQGTGKDDHMRSSYTPYNECQDADN-G-----FDETPPAPDGRS DDQYASPORKEHQTKSSQGTGKDDHMRSSYTPYNECQDADN-G-----FDETPPAPDGRS	283 284 284	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDDDLTPFISRMLMEDDIDDKFFQY 60 MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDDDLTPFISRMLMEDDIDDKFFQY 60 MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDDDLTPFISRMLMEDDIDDKFFQY 60	60 60 60
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	CMAGHPGHLQDGLIVIHVPLNLSVAMLDHGHALLPQEGKITS--LLPHRE-GRSTK SVLGRSPRSPGGRSHCHSHSRSPELRGHARSRS CSPATGRQDNQSTSPORREKHQTK SVLGRSPRSPGGRSHCHSHSRSPELRGHARSRS CSPATGRQDNQSTSPORREKHQTK	340 344 344	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTELS 120 FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTELS 120 FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTELS 120	120 120 120
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	QNHQDRK-NMMSADPTLLNIMI--AGMLTMMVIRRRRHLVSDPGHWAG-HPSHLOD SSGQAKEHDEKRSSYTPENYDRDADNGYD-----TPPAPDGRSWSALGRSPSPSP SSGQAKEHDEKRSSYTPENYDRDADNGYD-----TPPAPDGRSWSALGRSPSPSP	396 397 397	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP 180 QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP 180 QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP 180	180 180 180
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	GLIF IHT---RVALLNSVAILDLGHALLPPEKEMTSMPLPHERRSKONHDLR--- GRSHFHSRHSRSPELRGRAR---SRSCSPAGRQDDQYASPORKEEQTKSSROTKE GRSHFHSRHSRSPELRGRAR---SRSCSPAGRQDDQYASPORKEEQTKSSROTKE	449 453 453	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV 240 TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV 240 TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV 240	240 240 240
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	-KNMRSDEPALLNIAIAMLVSMVSMKQTPSAEWGSKLGTVOVINTAASN HDEERRSCTPEYSDR---RDAFIGHDETPPSAEWGSKLTVOVINTAASN HDEERRSCTPEYSDR---RDAFIGHDETPPSAEWGSKLTVOVINTAASN	501 502 502	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDSEAEKARNGGGAGRAARAAGAV 300 PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDSEAEKARNGGGAGRAARAAGAV 300 PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDSEAEKARNGGGAGRAARAAGAV 300	300 300 300
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	MKPSPAANLDVREPRPPVHPHPRGSLRARPYYRWTPIVAAIALSCVVFVLSMYV MKPSPAANLDVREPRPPVHPHPRGSLRARPYYRWTPIVAAIALSCVVFVLSMYV MKPSPAANLDVREPRPPVHPHPRGSLRARPYYRWTPIVAAIALSCVVFVLSMYV	60 60 60	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLAGTGS 360 VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLAGTGS 360 VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLAGTGS 360	360 360 360
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	NDCPRNSGDC AAGFLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQWRLLTC NDCPRNSGDC AAGFLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQWRLLTC NDCPRNSGDC AAGFLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQWRLLTC	120 120 120	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY 420 QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY 420 QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY 420	420 420 420
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQDFGVRIGLVYLISGLGSLMSALFIRSSISVGA IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQDFGVRIGLVYLISGLGSLMSALFIRSSISVGA IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQDFGVRIGLVYLISGLGSLMSALFIRSSISVGA	180 180 180	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	GFQWPGLFKCLSEREGGPEVIRITGIDFPQGFPRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPFRFQ 480 GFQWPGLFKCLSEREGGPEVIRITGIDFPQGFPRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPFRFQ 480 GFQWPGLFKCLSEREGGPEVIRITGIDFPQGFPRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPFRFQ 480	480 480 480
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG	240 240 240	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	AIAAKWETVRREDLHLDREEE--EGEEVVLVNCVHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI 538 AIAAKWETVRREDLHLDREEEVVLVNCVHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI 540 AIAAKWETVRREDLHLDREEEVVLVNCVHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI 540	538 540 540
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	FLLGFVVFIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL FLLGFVVFIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL FLLGFVVFIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL	300 300 300	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG 598 RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG 600 RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG 600	598 600 600
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLLADA LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLLADA LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLLADA	360 360 360	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	RCALNVIACEGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVELVDRKVKKLYHKDFVI 658 RWALNVIACEGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVELVDRKVKKLYHKDFVI 660 RWALNVIACEGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVELVDRKVKKLYHKDFVI 660	658 660 660
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	TQDKINQLCNQLCS 374 TQDKINQLCNQLCS 374 TQDKINQLCNQLCS 374		IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKLSF 690 DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKLSF 692 DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKLSF 692	690 692 692

Figure S3. Amino-acid alignment of the four candidate genes in the overlapped region.

Amino-acid alignment of the four candidate genes between the rice genomes of IR64, Azucena and Nipponbare varieties was realized under Clustal Omega platform (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Dash signficates a missing amino-acid, "*" indicates that the amino-acid is conserved, "." indicates that the amino-acids differ and belong to a group with weak similarity, and ":" indicates that the amino-acids differ but belong to a group with strong biochemical similarity. The criterion for distinguishing strong from weak similarities is as follows: strong similarity corresponds to a Gonnet PAM250 MATRIX score between amino acids of greater than 0.5, while weak similarity corresponds to a score of 0.5 or less.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>			
PXO99 ^A	Philippines strain		Adam Bogdanove Laboratory
MAI1	Malian strain	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3	Burkinabe strain	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3 Δ <i>talD</i> (EV)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	(Lachaux et al. submitted)
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i>)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	(Lachaux et al. submitted)
BAI192	Burkinabe strain		Diallo et al., in prep
MAI73	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI95	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI68	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI145	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI106	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI99	Malian strain		Doucouré et al., 2018
Plasmids			
pSKX1			Streubel et al., 2013

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

Strains highlighted in bold were only inoculated on the rice varieties IR64 and Azucena.

	Chromosome	ID_IR64	Name/function
1	7	<i>OsIR64_07g008410</i>	SurE domain-containing protein
2	7	<i>OsIR64_07g008420</i>	Conserved hypothetical protein
3	7	<i>OsIR64_07g008430</i>	expressed protein
4	7	<i>OsIR64_07g008440</i>	Zeta-carotene desaturase
5	7	<i>OsIR64_07g008450</i>	cytochrome b-c1 complex subunit 7 Putative expressed
6	7	<i>OsIR64_07g008460</i>	WD_REPEATS_REGION domain-containing protein
7	7	<i>OsIR64_07g008470</i>	Os07g0205500 protein
8	7	<i>OsIR64_07g008480</i>	expressed protein
9	7	<i>OsIR64_07g008490</i>	Os07g0205700 protein
10	7	<i>OsIR64_07g008500</i>	Cyclin-like protein
11	7	<i>OsIR64_07g008510</i>	expressed protein
12	7	<i>OsIR64_07g008520</i>	Putative 13 kDa prolamin C
13	7	<i>OsIR64_07g008530</i>	Os07g0206600 protein
14	7	<i>OsIR64_07g008540</i>	Methyltransferase
15	7	<i>OsIR64_07g008550</i>	Os07g0206800 protein
16	7	<i>OsIR64_07g008560</i>	expressed protein
17	7	<i>OsIR64_07g008570</i>	Protein kinase domain-containing protein
18	7	<i>OsIR64_07g008580</i>	Conserved hypothetical protein
19	7	<i>OsIR64_07g008590</i>	Conserved hypothetical

	Chromosome	ID_Azucena	Name/function
1	7	<i>OsAzucena07g009950</i>	SurE domain-containing protein
2	7	<i>OsAzucena07g009960</i>	Putative transposable element
3	7	<i>OsAzucena07g009970</i>	Hypothetical protein
4	7	<i>OsAzucena07g009980</i>	Zeta-carotene desaturase
5	7	<i>OsAzucena07g009990</i>	expressed protein
6	7	<i>OsAzucena07g010000</i>	Putative Cytochrome b-c1 complex subunit 7
7	7	<i>OsAzucena07g010010</i>	expressed protein
8	7	<i>OsAzucena07g010020</i>	cDNA clone:J013072E21 full insert sequence
9	7	<i>OsAzucena07g010030</i>	Os07g0205500 protein
10	7	<i>OsAzucena07g010040</i>	expressed protein
11	7	<i>OsAzucena07g010050</i>	Os07g0205700 protein
12	7	<i>OsAzucena07g010060</i>	NA
13	7	<i>OsAzucena07g010070</i>	Cyclin-like protein
14	7	<i>OsAzucena07g010080</i>	expressed protein
15	7	<i>OsAzucena07g010090</i>	13 kDa prolamin C
16	7	<i>OsAzucena07g010100</i>	13 kDa prolamin C
17	7	<i>OsAzucena07g010110</i>	Os07g0206600 protein
18	7	<i>OsAzucena07g010120</i>	Methyltransferase
19	7	<i>OsAzucena07g010130</i>	Os07g0206800 protein

			protein
20	7	<i>OsIR64_07g008600</i>	S5 DRBM domain-containing protein
21	7	<i>OsIR64_07g008610</i>	Putative Polygalacturonase
22	7	<i>OsIR64_07g008620</i>	40S ribosomal protein S15a-1
23	7	<i>OsIR64_07g008630</i>	Putative Polygalacturonase
24	7	<i>OsIR64_07g008640</i>	Cellulose synthase
25	7	<i>OsIR64_07g008650</i>	Remorin_C domain-containing protein
26	7	<i>OsIR64_07g008660</i>	expressed protein
27	7	<i>OsIR64_07g008670</i>	Putative Myosin-like protein
28	7	<i>OsIR64_07g008680</i>	MFS domain-containing protein
29	7	<i>OsIR64_07g008690</i>	Dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycosyltransferase 48 kDa subunit
30	7	<i>OsIR64_07g008700</i>	Os07g0209100 protein
31	7	<i>OsIR64_07g008710</i>	Conserved hypothetical protein
32	7	<i>OsIR64_07g008720</i>	Conserved hypothetical protein
33	7	<i>OsIR64_07g008730</i>	expressed protein
34	7	<i>OsIR64_07g008740</i>	Putative helicase conserved C-terminal domain containing protein expressed

20	7	<i>OsAzucena07g010140</i>	expressed protein
21	7	<i>OsAzucena07g010150</i>	Os07g0207100 protein (Fragment)
22	7	<i>OsAzucena07g010160</i>	Conserved hypothetical protein
23	7	<i>OsAzucena07g010170</i>	NA
24	7	<i>OsAzucena07g010180</i>	Conserved hypothetical protein
25	7	<i>OsAzucena07g010190</i>	S5 DRBM domain-containing protein
26	7	<i>OsAzucena07g010200</i>	expressed protein
27	7	<i>OsAzucena07g010210</i>	Polygalacturonase
28	7	<i>OsAzucena07g010220</i>	CTD phosphatase-like protein
29	7	<i>OsAzucena07g010230</i>	Polygalacturonase
30	7	<i>OsAzucena07g010240</i>	Os07g0207900 protein
31	7	<i>OsAzucena07g010250</i>	40S ribosomal protein S15a-1
32	7	<i>OsAzucena07g010260</i>	Os07g0208100 protein (Fragment)
33	7	<i>OsAzucena07g010270</i>	Os07g0208200 protein
34	7	<i>OsAzucena07g010280</i>	NAM-associated domain-containing protein

35	7	<i>OsIR64_07g008750</i>	Putative Fe(2+) transport protein 1
36	7	<i>OsIR64_07g008760</i>	C2H2-type domain-containing protein
37	7	<i>OsIR64_07g008770</i>	expressed protein
38	7	<i>OsIR64_07g008780</i>	BZIP domain-containing protein
39	7	<i>OsIR64_07g008790</i>	Exocyst subunit Exo70 family protein
1	11	<i>OsIR64_11g032370</i>	Putative Disease resistance

35	7	<i>OsAzucena07g010290</i>	Cellulose synthase
36	7	<i>OsAzucena07g010300</i>	DNA binding protein-like
37	7	<i>OsAzucena07g010310</i>	NA
38	7	<i>OsAzucena07g010320</i>	expressed protein
39	7	<i>OsAzucena07g010330</i>	expressed protein
40	7	<i>OsAzucena07g010340</i>	Myosin-like protein
41	7	<i>OsAzucena07g010350</i>	MFS domain-containing protein
42	7	<i>OsAzucena07g010360</i>	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit
43	7	<i>OsAzucena07g010370</i>	Os07g0209100 protein
44	7	<i>OsAzucena07g010380</i>	NA
45	7	<i>OsAzucena07g010390</i>	Putative expressed protein
46	7	<i>OsAzucena07g010400</i>	NA
47	7	<i>OsAzucena07g010410</i>	NA
48	7	<i>OsAzucena07g010420</i>	expressed protein
49	7	<i>OsAzucena07g010430</i>	NA
50	7	<i>OsAzucena07g010440</i>	ZOS7-03 - C2H2 zinc finger protein expressed
51	7	<i>OsAzucena07g010450</i>	expressed protein
52	7	<i>OsAzucena07g010460</i>	Os07g0209800 protein
1	11	<i>OsAzucena11g043300</i>	Putative Disease resistance

			protein RGA5
2	11	<i>OsIR64_11g032380</i>	NB-ARC domain containing protein
3	11	<i>OsIR64_11g032390</i>	Putative VWFA domain-containing protein
4	11	<i>OsIR64_11g032400</i>	Disease resistance protein Pik-1
5	11	<i>OsIR64_11g032410</i>	Disease resistance protein Piks-2
6	11	<i>OsIR64_11g032420</i>	tetratricopeptide repeat domain containing protein expressed
7	11	<i>OsIR64_11g032430</i>	Putative DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 46
8	11	<i>OsIR64_11g032440</i>	Expressed protein
9	11	<i>OsIR64_11g032450</i>	NA
10	11	<i>OsIR64_11g032460</i>	rfam_acc=RF00885
11	11	<i>OsIR64_11g032470</i>	Protein kinase
12	11	<i>OsIR64_11g032480</i>	GUB_WAK_bind domain-containing protein
13	11	<i>OsIR64_11g032490</i>	Protein kinase domain-containing protein
14	11	<i>OsIR64_11g032500</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
15	11	<i>OsIR64_11g032510</i>	Protein kinase domain-containing protein

			protein RGA5
2	11	<i>OsAzucena11g043310</i>	NA
3	11	<i>OsAzucena11g043320</i>	NB-ARC domain-containing protein
4	11	<i>OsAzucena11g043330</i>	expressed protein
5	11	<i>OsAzucena11g043340</i>	rfam_acc=RF00885
6	11	<i>OsAzucena11g043350</i>	Transposon protein Putative CACTAEn/Spm sub-class
7	11	<i>OsAzucena11g043360</i>	NA
8	11	<i>OsAzucena11g043370</i>	NA
9	11	<i>OsAzucena11g043380</i>	NA
10	11	<i>OsAzucena11g043390</i>	Disease resistance protein PIK5-NP
11	11	<i>OsAzucena11g043400</i>	Disease resistance protein PIK5-NP
12	11	<i>OsAzucena11g043410</i>	Conserved hypothetical protein
13	11	<i>OsAzucena11g043420</i>	tetratricopeptide repeat domain containing protein expressed
14	11	<i>OsAzucena11g043430</i>	Os11g0689400 protein
15	11	<i>OsAzucena11g043440</i>	Expressed protein

16	11	<i>OsIR64_11g032520</i>	Protein kinase domain-containing protein
17	11	<i>OsIR64_11g032530</i>	Conserved hypothetical protein
18	11	<i>OsIR64_11g032540</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 5
19	11	<i>OsIR64_11g032550</i>	Conserved hypothetical protein
20	11	<i>OsIR64_11g032560</i>	Major disease resistance protein Xa4
21	11	<i>OsIR64_11g032570</i>	Protein kinase domain-containing protein
22	11	<i>OsIR64_11g032580</i>	rfam_acc=RF00886
23	11	<i>OsIR64_11g032590</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
24	11	<i>OsIR64_11g032600</i>	expressed protein
25	11	<i>OsIR64_11g032610</i>	Protein kinase domain-containing protein
26	11	<i>OsIR64_11g032620</i>	Protein kinase domain-containing protein
27	11	<i>OsIR64_11g032630</i>	Receptor kinase TRKc
28	11	<i>OsIR64_11g032640</i>	Protein kinase domain-containing protein
29	11	<i>OsIR64_11g032650</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570

16	11	<i>OsAzucena11g043450</i>	NA
17	11	<i>OsAzucena11g043460</i>	expressed protein
18	11	<i>OsAzucena11g043470</i>	rfam_acc=RF01902
19	11	<i>OsAzucena11g043480</i>	rfam_acc=RF01902
20	11	<i>OsAzucena11g043490</i>	Protein kinase domain-containing protein
21	11	<i>OsAzucena11g043500</i>	Protein kinase domain-containing protein
22	11	<i>OsAzucena11g043510</i>	NA
23	11	<i>OsAzucena11g043520</i>	Putative expressed protein
24	11	<i>OsAzucena11g043530</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
25	11	<i>OsAzucena11g043540</i>	Putative wall-associated receptor kinase-like 16
26	11	<i>OsAzucena11g043550</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
27	11	<i>OsAzucena11g043560</i>	Protein kinase domain-containing protein
28	11	<i>OsAzucena11g043570</i>	Transposon protein Putative CACTAEn/Spm sub-class
29	11	<i>OsAzucena11g043580</i>	NA

30	11	<i>OsIR64_11g032660</i>	RRM_8 domain-containing protein
31	11	<i>OsIR64_11g032670</i>	Putative Receptor kinase-like protein Xa21
32	11	<i>OsIR64_11g032680</i>	Protein kinase domain-containing protein
33	11	<i>OsIR64_11g032690</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase EFR
34	11	<i>OsIR64_11g032700</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
35	11	<i>OsIR64_11g032710</i>	Receptor kinase TRKc
36	11	<i>OsIR64_11g032720</i>	Expressed protein
37	11	<i>OsIR64_11g032730</i>	ATP-citrate synthase alpha chain protein 2
38	11	<i>OsIR64_11g032740</i>	Fn3_like domain-containing protein
39	11	<i>OsIR64_11g032750</i>	Putative Disease resistance protein RGA5
40	11	<i>OsIR64_11g032760</i>	Conserved hypothetical protein
41	11	<i>OsIR64_11g032770</i>	Conserved hypothetical protein
42	11	<i>OsIR64_11g032780</i>	stripe rust resistance protein Yr10 Putative expressed
43	11	<i>OsIR64_11g032790</i>	expressed protein

30	11	<i>OsAzucena11g043590</i>	rfam_acc=RF00885
31	11	<i>OsAzucena11g043600</i>	NA
32	11	<i>OsAzucena11g043610</i>	Putative Probably inactive leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At3g28040
33	11	<i>OsAzucena11g043620</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
34	11	<i>OsAzucena11g043630</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
35	11	<i>OsAzucena11g043640</i>	Os11g0695800 protein (Fragment)
36	11	<i>OsAzucena11g043650</i>	Transposable element protein Putative MuDR
37	11	<i>OsAzucena11g043660</i>	Expressed protein
38	11	<i>OsAzucena11g043670</i>	NA
39	11	<i>OsAzucena11g043680</i>	NA
40	11	<i>OsAzucena11g043690</i>	ATP-citrate synthase alpha chain protein 2
41	11	<i>OsAzucena11g043700</i>	Fn3_like domain-containing protein
42	11	<i>OsAzucena11g043710</i>	cDNA clone:J033001C17%2C full insert sequence
43	11	<i>OsAzucena11g043720</i>	NA

44	11	<i>OsIR64_11g032800</i>	Protein kinase
45	11	<i>OsIR64_11g032810</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
46	11	<i>OsIR64_11g032820</i>	Myb-related protein MYBAS1
47	11	<i>OsIR64_11g032830</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
48	11	<i>OsIR64_11g032840</i>	Conserved hypothetical protein
49	11	<i>OsIR64_11g032850</i>	Putative H0103C06.4 protein
50	11	<i>OsIR64_11g032860</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
51	11	<i>OsIR64_11g032870</i>	Xylanase inhibitor protein 2
52	11	<i>OsIR64_11g032880</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
53	11	<i>OsIR64_11g032890</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
54	11	<i>OsIR64_11g032900</i>	Putative Xylanase inhibitor protein 1
55	11	<i>OsIR64_11g032910</i>	Putative Xylanase inhibitor protein 1
56	11	<i>OsIR64_11g032920</i>	Putative Zinc finger protein ZAT8
57	11	<i>OsIR64_11g032930</i>	PAP_central domain-containing protein
58	11	<i>OsIR64_11g032940</i>	Putative DDE Tnp4 domain-containing protein
59	11	<i>OsIR64_11g032950</i>	Putative expressed protein

44	11	<i>OsAzucena11g043730</i>	Laccase-21
45	11	<i>OsAzucena11g043740</i>	NA
46	11	<i>OsAzucena11g043750</i>	OSJNBa0053K19.15 protein
47	11	<i>OsAzucena11g043760</i>	Rep_fac-A_C domain-containing protein
48	11	<i>OsAzucena11g043770</i>	ATP-dependent DNA helicase
49	11	<i>OsAzucena11g043780</i>	expressed protein
50	11	<i>OsAzucena11g043790</i>	zinc knuckle family protein expressed
51	11	<i>OsAzucena11g043800</i>	Putative Ulp1 protease-like protein
52	11	<i>OsAzucena11g043810</i>	NA
53	11	<i>OsAzucena11g043820</i>	NA
54	11	<i>OsAzucena11g043830</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
55	11	<i>OsAzucena11g043840</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
56	11	<i>OsAzucena11g043850</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
57	11	<i>OsAzucena11g043860</i>	Putative ULP_PROTEASE domain-containing protein
58	11	<i>OsAzucena11g043870</i>	NA
59	11	<i>OsAzucena11g043880</i>	Conserved hypothetical

60	11	<i>OsIR64_11g032960</i>	Putative Osmotin-like protein
61	11	<i>OsIR64_11g032970</i>	RING-type domain-containing protein
62	11	<i>OsIR64_11g032980</i>	RING-type domain-containing protein
63	11	<i>OsIR64_11g032990</i>	Vacuolar protein sorting-associated protein 2 homolog 1
64	11	<i>OsIR64_11g033000</i>	Conserved hypothetical protein
65	11	<i>OsIR64_11g033010</i>	Expressed protein
66	11	<i>OsIR64_11g033020</i>	Neprosin_AP domain-containing protein
67	11	<i>OsIR64_11g033030</i>	Heat shock cognate 70 kDa
68	11	<i>OsIR64_11g033040</i>	NA
69	11	<i>OsIR64_11g033050</i>	rfam_acc=RF00133
70	11	<i>OsIR64_11g033060</i>	NA
71	11	<i>OsIR64_11g033070</i>	Heat shock cognate 70 kDa protein
72	11	<i>OsIR64_11g033080</i>	Os11g0704000 protein
73	11	<i>OsIR64_11g033090</i>	NB-ARC domain containing protein
74	11	<i>OsIR64_11g033100</i>	expressed protein
75	11	<i>OsIR64_11g033110</i>	OBG-type G domain-containing protein

			protein
60	11	<i>OsAzucena11g043890</i>	NA
61	11	<i>OsAzucena11g043900</i>	expressed protein
62	11	<i>OsAzucena11g043910</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
63	11	<i>OsAzucena11g043920</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
64	11	<i>OsAzucena11g043930</i>	Retrotransposon protein Putative Ty3-gypsy subclass
65	11	<i>OsAzucena11g043940</i>	Putative Disease resistance protein PIK6-NP
66	11	<i>OsAzucena11g043950</i>	Putative Disease resistance protein PIK6-NP
67	11	<i>OsAzucena11g043960</i>	Retrotransposon protein Putative unclassified
68	11	<i>OsAzucena11g043970</i>	NA
69	11	<i>OsAzucena11g043980</i>	Putative OSJNBa0043L09.11 protein
70	11	<i>OsAzucena11g043990</i>	rfam_acc=RF00885
71	11	<i>OsAzucena11g044000</i>	rfam_acc=RF00885
72	11	<i>OsAzucena11g044010</i>	expressed protein
73	11	<i>OsAzucena11g044020</i>	Myb-related protein MYBAS1
74	11	<i>OsAzucena11g044030</i>	expressed protein
75	11	<i>OsAzucena11g044040</i>	Protein kinase domain-containing protein

76	11	<i>OsIR64_11g033120</i>	anti_codon=CTT
77	11	<i>OsIR64_11g033130</i>	Putative Metallothionein-like protein 1A
78	11	<i>OsIR64_11g033140</i>	X8 domain-containing protein
79	11	<i>OsIR64_11g033150</i>	RRM domain-containing protein
80	11	<i>OsIR64_11g033160</i>	RHOMBOID-like protein
81	11	<i>OsIR64_11g033170</i>	expressed protein
82	11	<i>OsIR64_11g033180</i>	GRAS domain-containing protein
83	11	<i>OsIR64_11g033190</i>	Putative Os11g0631825 protein
84	11	<i>OsIR64_11g033200</i>	Conserved hypothetical protein
85	11	<i>OsIR64_11g033210</i>	Conserved hypothetical protein
86	11	<i>OsIR64_11g033220</i>	Conserved hypothetical protein
87	11	<i>OsIR64_11g033230</i>	Conserved hypothetical protein
88	11	<i>OsIR64_11g033240</i>	Conserved hypothetical protein
89	11	<i>OsIR64_11g033250</i>	Expressed protein
90	11	<i>OsIR64_11g033260</i>	Expressed protein
91	11	<i>OsIR64_11g033270</i>	Thaumatococcus-like protein
92	11	<i>OsIR64_11g033280</i>	CYCLIN domain-containing protein

76	11	<i>OsAzucena11g044050</i>	NA
77	11	<i>OsAzucena11g044060</i>	Chitinase
78	11	<i>OsAzucena11g044070</i>	Glycosyl hydrolases family 18
79	11	<i>OsAzucena11g044080</i>	Xylanase inhibitor protein 2
80	11	<i>OsAzucena11g044090</i>	Chitinase
81	11	<i>OsAzucena11g044100</i>	Chitinase
82	11	<i>OsAzucena11g044110</i>	Glycosyl hydrolases family 18
83	11	<i>OsAzucena11g044120</i>	Glycosyl hydrolases family 18
84	11	<i>OsAzucena11g044130</i>	expressed protein
85	11	<i>OsAzucena11g044140</i>	Xylanase inhibitor protein 1
86	11	<i>OsAzucena11g044150</i>	Chitinase III C10701-rice
87	11	<i>OsAzucena11g044160</i>	Chitinase III C10701-rice
88	11	<i>OsAzucena11g044170</i>	Chitinase III C10701-rice
89	11	<i>OsAzucena11g044180</i>	ZOS11-09 - C2H2 zinc finger protein expressed
90	11	<i>OsAzucena11g044190</i>	C2H2 type zinc finger transcription factor ZFP17
91	11	<i>OsAzucena11g044200</i>	Expressed protein
92	11	<i>OsAzucena11g044210</i>	DDE Tnp4 domain-containing protein

93	11	<i>OsIR64_11g033290</i>	Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase chloroplastic
94	11	<i>OsIR64_11g033300</i>	Os11g0707050 protein
95	11	<i>OsIR64_11g033310</i>	Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase chloroplastic
96	11	<i>OsIR64_11g033320</i>	expressed protein
97	11	<i>OsIR64_11g033330</i>	Chain A Nmr Structure Of The Single Qalggh Zinc Finger Domain From Arabidopsis Thaliana Superman Protein
98	11	<i>OsIR64_11g033340</i>	Putative expressed protein
99	11	<i>OsIR64_11g033350</i>	Very-long-chain aldehyde decarbonylase GL1-11
100	11	<i>OsIR64_11g033360</i>	Os11g0707700 protein
101	11	<i>OsIR64_11g033370</i>	Mitochondrial uncoupling protein 1
102	11	<i>OsIR64_11g033380</i>	expressed protein
103	11	<i>OsIR64_11g033390</i>	Laccase-22
104	11	<i>OsIR64_11g033400</i>	Putative expressed protein
105	11	<i>OsIR64_11g033410</i>	Conserved hypothetical protein
106	11	<i>OsIR64_11g033420</i>	GDSL esterase/lipase

93	11	<i>OsAzucena11g044220</i>	OSJNBa0023J03.3 protein
94	11	<i>OsAzucena11g044230</i>	F-box domain-containing protein
95	11	<i>OsAzucena11g044240</i>	Os11g0703000 protein
96	11	<i>OsAzucena11g044250</i>	thaumatin family domain containing protein expressed
97	11	<i>OsAzucena11g044260</i>	RING-type domain-containing protein
98	11	<i>OsAzucena11g044270</i>	RING-type domain-containing protein
99	11	<i>OsAzucena11g044280</i>	Vacuolar protein sorting-associated protein 2 homolog 1
100	11	<i>OsAzucena11g044290</i>	Expressed protein
101	11	<i>OsAzucena11g044300</i>	Neprosin_AP domain-containing protein
102	11	<i>OsAzucena11g044310</i>	expressed protein
103	11	<i>OsAzucena11g044320</i>	Heat shock cognate 70 kDa
104	11	<i>OsAzucena11g044330</i>	NA
105	11	<i>OsAzucena11g044340</i>	rfam_acc=RF00133
106	11	<i>OsAzucena11g044350</i>	NA

			CPRD49
107	11	<i>OsIR64_11g033430</i>	SOR_SNZ domain-containing protein
108	11	<i>OsIR64_11g033440</i>	helicase conserved C-terminal domain containing protein expressed

107	11	<i>OsAzucena11g044360</i>	Heat shock cognate 70 kDa protein
108	11	<i>OsAzucena11g044370</i>	selT/selW/selH selenoprotein domain containing protein expressed
109	11	<i>OsAzucena11g044380</i>	OBG-type G domain-containing protein
110	11	<i>OsAzucena11g044390</i>	anti_codon=CTT / tRNA-Lys
111	11	<i>OsAzucena11g044400</i>	Metallothionein-like protein 1A
112	11	<i>OsAzucena11g044410</i>	Glucan endo-1-3-beta-glucosidase (Ec 3.2.1.39) ((1-3)-beta-glucan endohydrolase) ((1-3)-beta-glucanase)(Beta-1-3-endoglucanase)
113	11	<i>OsAzucena11g044420</i>	Os11g0704700 protein/ RNA recognition motif containing protein, expressed
114	11	<i>OsAzucena11g044430</i>	RHOMBOID-like protein
115	11	<i>OsAzucena11g044440</i>	expressed protein
116	11	<i>OsAzucena11g044450</i>	GRAS family transcription factor containing protein expressed
117	11	<i>OsAzucena11g044460</i>	NA
118	11	<i>OsAzucena11g044470</i>	GRAS family transcription factor containing protein expressed
119	11	<i>OsAzucena11g044480</i>	GRAS family transcription factor containing protein

			expressed
120	11	<i>OsAzucena11g044490</i>	GRAS family transcription factor containing protein
121	11	<i>OsAzucena11g044500</i>	Putative Scarecrow-like protein 33
122	11	<i>OsAzucena11g044510</i>	H0512B01.8 protein
123	11	<i>OsAzucena11g044520</i>	Putative Scarecrow-like protein 34
124	11	<i>OsAzucena11g044530</i>	Expressed protein
125	11	<i>OsAzucena11g044540</i>	Expressed protein
126	11	<i>OsAzucena11g044550</i>	Thaumatococcus-like protein
127	11	<i>OsAzucena11g044560</i>	CYCLIN domain-containing protein
128	11	<i>OsAzucena11g044570</i>	Os11g0706800 protein
129	11	<i>OsAzucena11g044580</i>	Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase chloroplast
130	11	<i>OsAzucena11g044590</i>	Expressed protein
131	11	<i>OsAzucena11g044600</i>	Expressed protein
132	11	<i>OsAzucena11g044610</i>	Chain A Nmr Structure Of The Single Qalggh Zinc Finger Domain From Arabidopsis Thaliana Superman Protein
133	11	<i>OsAzucena11g044620</i>	expressed protein
134	11	<i>OsAzucena11g044630</i>	Very-long-chain aldehyde decarboxylase GL1-11
135	11	<i>OsAzucena11g044640</i>	Os11g0707700 protein
136	11	<i>OsAzucena11g044650</i>	Mitochondrial carrier protein expressed

137	11	<i>OsAzucena11g044660</i>	Expressed protein
138	11	<i>OsAzucena11g044670</i>	Laccase-22
139	11	<i>OsAzucena11g044680</i>	Conserved hypothetical protein
140	11	<i>OsAzucena11g044690</i>	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase family protein expressed
141	11	<i>OsAzucena11g044700</i>	Os11g0708500 protein
142	11	<i>OsAzucena11g044710</i>	ATP-dependent DNA helicase
143	11	<i>OsAzucena11g044720</i>	expressed protein
144	11	<i>OsAzucena11g044730</i>	Phenylalanine ammonia-lyase
145	11	<i>OsAzucena11g044740</i>	expressed protein
146	11	<i>OsAzucena11g044750</i>	expressed protein
147	11	<i>OsAzucena11g044760</i>	Putative WAT1-related protein At5g64700
148	11	<i>OsAzucena11g044770</i>	WAT1-related protein

Table S2. List of genes located in the QTL intervals on chromosomes 7 and 11, in IR64 and their orthologs in Azucena rice variety.

Chapitre 3 : Utilisation d'une approche de RNA-seq pour identifier des gènes exécuteurs candidats contre les souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Contexte

De précédentes études menées par l'équipe sur les souches Africaines de *Xoo* (Gonzalez et al. 2007; Djedatin et al. 2011) ont montré que ces dernières diffèrent des souches Asiatiques par de nombreux traits, et notamment qu'elles induisent des résistances qui leur sont spécifiques. A ce jour, seulement quatre gènes de résistance de type exécuteur (*E*) induits par *Xoo* ont été identifiés chez le riz. Il s'agit de *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*. Les TALE correspondants AvrXa7, AvrXa10, AvrXa23 et AvrXa27 n'ont jamais été détectés chez les souches Africaines.

Dans les chapitres précédents deux TALE d'avirulence, dont TalD, ont été identifiés chez les souches de *Xoo* MAI1 et BAI3 pour promouvoir la résistance sur des variétés de riz, dont la variété IR64 qui est séquencée et pour laquelle une population de lignées recombinantes était disponible. Les analyses de cartographie menées dans le chapitre 2 ont permis de mettre en avant cinq QTL impliqués dans la résistance à ces deux souches. Par ailleurs, un lien entre le TALE d'avirulence TalD et le QTL identifié sur le chromosome 11 a pu être établi. Fort des résultats acquis par une approche de génétique et, considérant la capacité des TALE à induire leurs gènes cibles, nous nous sommes ensuite tournés vers une approche de RNAseq. Cette approche a pour but d'identifier les gènes différentiellement régulés en condition de résistance chez IR64 et de pouvoir ainsi croiser ces résultats avec ceux obtenus dans le chapitre 2 pour identifier de nouveaux gènes de résistance aux souches Africaines de *Xoo* chez IR64.

Matériels & Méthodes

Pour tester si la résistance médiée par TalD chez IR64 provenait de l'induction d'un gène exécuteur, nous avons dans un premier temps testé si le domaine d'activation de la transcription de ce TALE était nécessaire à son activité d'avirulence en le supprimant.

Basé sur la capacité des effecteurs TAL à se fixer au promoteur de leur gènes cibles et à les sur-exprimer, nous avons entrepris une analyse de transcriptomique sur la variété résistante IR64 et la variété sensible Nipponbare, afin d'identifier de potentiels gènes exécuteurs répondant à l'inoculation de MAI1 et BAI3 sur IR64. En plus des deux souches sauvages, la souche mutante BAI3 Δ talD portant soit un vecteur vide (EV), soit complétée avec *talD* (*ptalD*), ont été utilisées pour identifier spécifiquement les gènes exécuteurs candidats induits par cet effecteur.

Résultats & Conclusions

Dans cette étude, les résultats ont démontré que le domaine d'activation de TalD, facteur d'avirulence conservé chez les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, est nécessaire pour promouvoir la résistance chez IR64. Les résultats d'expressions différentielles combinés aux analyses de prédiction de cibles *in silico* pour TalD ont permis l'identification de plusieurs gènes exécuteurs candidats.

Perspectives

Afin de confirmer le rôle des gènes candidats dans la résistance de IR64 face aux souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, des TALE artificiels seront générés pour cibler le promoteur de ces derniers. Ils seront transformés dans une souche de *Xoo* virulente sur IR64 afin d'observer si l'induction d'un des gènes candidats permet d'observer un gain d'avirulence. Suite à cela, si certains des gènes candidats sont validés, la génération de plantes éditées dans l'EBE ou dans la séquence codante du gène et la transformation de plantes sensibles avec le gène candidat et son promoteur, seront entreprises.

Implication personnelle

L'inoculation des souches bactériennes, la lecture des longueurs de lésions, l'extraction des ARN, ont été réalisés par mes soins. Tout au long de ma thèse, en plus d'avoir suivie de nombreuses formations en bioinformatique, j'ai été formée par Julie Orjuela aux analyses de RNAseq. Alvaro L. Perez-Quintero m'a par la suite assistée dans les analyses des données brutes de séquençage des échantillons de cette étude; le traitement des données ressortant de ces analyses a ensuite été pris en charge par moi-même.

RNA-seq approach used to uncover potential candidate executor genes against African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains

Marlène Lachaux¹, Alvaro L. Perez-Quintero¹, Julie Orjuela^{1,2}, Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²DIADE DIversity-Adaptation-DEvelopment of plants, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, CNRS, Montpellier, France

Abstract

Bacterial leaf blight (BLB) of rice, caused by the gram-negative bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), is a devastating disease responsible of considerable losses and yield reductions in Asia and Africa. Through its type-III secretion system *Xoo* injects Transcription Activator-Like Effectors (TALEs) into the host cell, hence modulating the expression of plant genes to promote bacterial colonization. Few relevant target genes of TALEs have been identified so far, but some of them have been reported as major virulence effectors by targeting susceptibility (*S*) genes whose overexpression contributes to the development of the disease. On another hand, plants have evolved to "trick" TALEs into driving the expression of so-called executor (*E*) genes leading to a resistance reaction that stops disease development. Although in rice, four *E* genes induced by *Xoo* TALEs have been identified and cloned, their cognate TALEs have never been detected in African *Xoo* strains. So far, we have identified four TALE candidates conferring avirulence to the *Xoo* strain MAI1 on different rice varieties, and confirmed the avirulence activity of two. In this study, results demonstrated that TalD, an avirulence factor common to the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, relies on its activation domain to promote resistance in IR64. With the aim of identifying potential *E* genes underlying IR64 resistance to MAI1 and BAI3, we used an RNAseq approach combined to *in silico* EBE prediction, allowing for the identification of several candidate *E* genes.

Introduction

To date, there are approximately 400 species of plants that serve as host for the plant-pathogenic bacteria *Xanthomonas*, including a wide variety of monocotyledons and dicotyledons, of which crops of important agronomic interest such as tomato, rice, cotton, wheat, cassava, or citrus (Jacques et al. 2016). The gram-negative bacteria *Xanthomonas* secretes via its type-III secretion system (T3SS) a cocktail of effectors into the host cell, which can be distinguished in two families, the TAL (Transcription Activator-Like) and the non-TAL effectors. In different pathosystems TAL effectors (TALEs) play an important role in pathogenicity. TALEs are characterized by a nuclear localization signal (NLS) allowing them to enter the nucleus, a central domain composed of tandem repeats enabling them to bind to DNA in a specific manner, and an acidic activation domain (AD) allowing the recruitment of the transcriptional machinery. The repeat region is composed of sequences of 33-34 nearly-identical amino acids, of which the residues in position 12 and 13 are hypervariable and responsible for the DNA stabilization and interaction, they are called RVDs (Repeat Variable Di-residues). TALEs bind to a DNA sequence called EBE for "Effector Binding Element", located in the promoter of the target genes. In 2009, two teams (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) deciphered simultaneously the code governing the interaction between TALE and DNA, demonstrating that each RVD can fix a specific nucleotide and consequently allowing to predict target EBEs from TALE sequences. TALEs were known to promote disease through the induction of susceptibility (*S*) genes, which are essential to the proliferation of bacteria into the plant (Hutin et al. 2015). Among the *S* genes targeted by TALEs, the *SWEET* (*Sugar Will Eventually be Exported Transporters*) gene family, encoding sugar uniporters, is the most studied (Streubel et al. 2013; Chen 2014; Cox et al. 2017). Even if TALEs primary role seems to be allowing disease development, they were first identified at promoting resistance mechanisms (Bonas et al. 1989; Hopkins et al. 1992). To date, three types of resistance mediated by TALEs have been describe. The first one, is called "resistance by loss of susceptibility" and results of a polymorphism in the TALE's EBE of a susceptibility gene compromising its induction and consequently disease development. Otherwise, TALEs can be recognized as a "classical" type-III effector (T3E) through a nucleotide-binding domain leucine rich repeat containing receptor (NLR) protein thus triggering a resistance cascade and finally an hypersensitive response (HR). To date, two NLRs from the tomato plant and rice, respectively named Bs4 and Xa1, are known to induce TALE-dependent resistance (Yoshimura et al. 1998; Schornack et al. 2004). These NLR recognize TALE independently of their RVD sequence and activation domain (AD). Bs4 is constitutively induced and perceives AvrBs4 in the cytoplasm. Xa1 recognizes most of the *Xoo* TALEs and acts in the nucleus (Ji et al. 2016). Finally, some TALEs can bind to the promoter of a so-called executor (*E*) gene which blocks disease development. In the last case, with

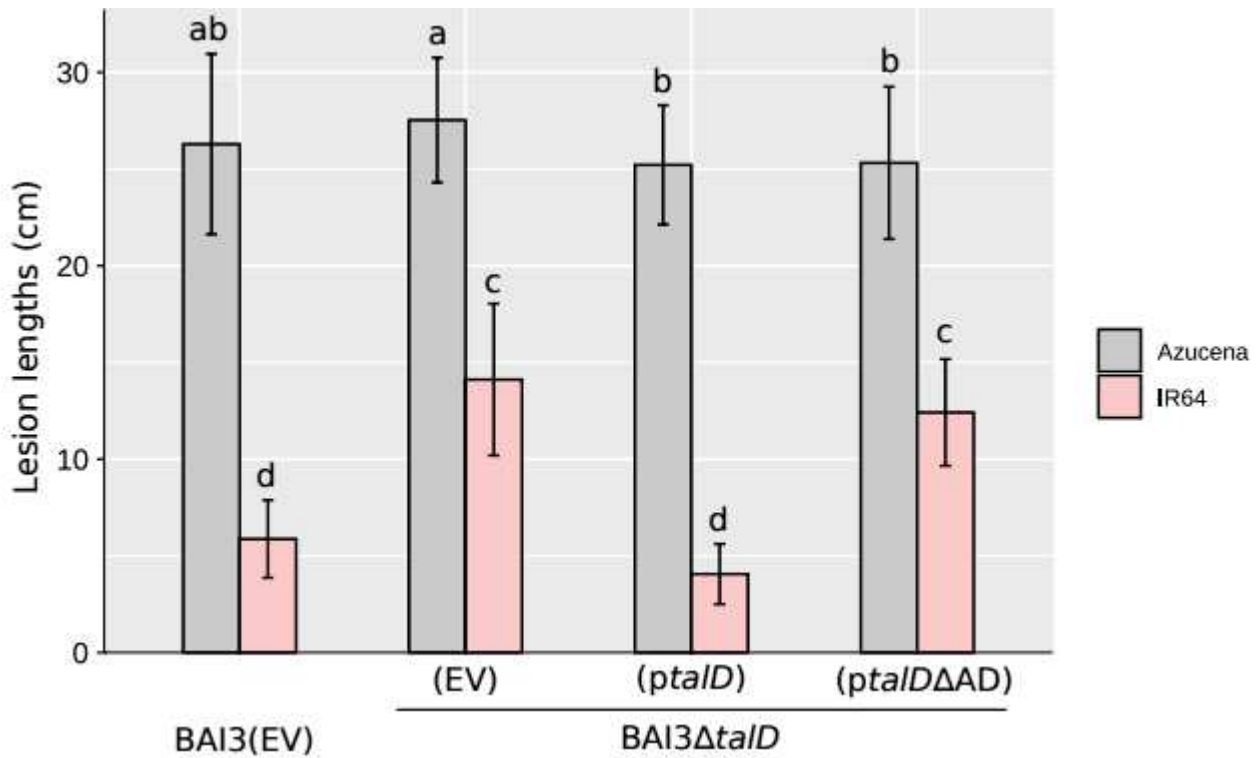


Figure 1. Phenotypic characterization of *TalD* avirulence factor on the IR64 rice variety.

Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and BAI3Δ*talD* carrying an empty vector (EV), a plasmid with *talD* (*ptalD*) or a plasmid with *talD*ΔAD (*ptalD*ΔAD). To assess significance, the parametric test ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm SD. Experiment was repeated three times with similar results.

an EBE placed upstream of this type of gene, the plant ensures the attachment of a TALE to the gene promoter hence driving the initiation of a resistance pathway (Zhang et al. 2015).

To date six *E* genes, along with their associated avirulence TALEs, have been cloned, namely *Bs3* and *Bs4C-R* in pepper (Römer et al. 2007; Strauß et al. 2012) and *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* and *Xa27* in rice (Gu et al. 2005, 2008; Wang et al. 2015; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). Executor genes code for small proteins of unknown function and do not resemble the classical resistance proteins NLRs. The first executor gene to be cloned in rice was the *Xa27* gene (Gu et al. 2004), isolated by positional cloning. *Xoo* strains carrying the *tal* gene *avrXa27* are able to induce *Xa27* and consequently the production of a small protein secreted in the apoplast that is toxic to the cell. Overexpression of this protein results in thickening of the vascular bundle elements, as well as an HR that completely blocks the development of rice vascular bacterial disease (Wu et al. 2008). Regarding the *R* gene *Bs4C* from pepper, which is induced by the AvrBs4 TALE of *X. euvesicatoria*, rather than using laborious approach such as positional cloning, Strauß et al. (2012) succeed to isolate *Bs4C* by using Illumina-based transcriptome profiling combined with EBE predictions (Strauß et al. 2012). In 2021, this time through the combination of fine genetic mapping and transcriptomic approaches, Luo et al. (2021) managed to isolate the *R* gene *Xa7*, targeted by TALEs AvrXa7 and PthXo3 (Luo et al. 2021). The *E* gene *Xa7* was shown to confer highly durable resistance due to the fact that AvrXa7 plays a dual role, first by targeting this *E* gene thus initiating resistance pathways, and second by targeting the *S* gene *OsSWEET14* driving mechanisms leading to disease (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010).

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*), the causal agent of the bacterial leaf blight (BLB) of rice, is considered as a threat in Asia and West Africa due to important yield losses, ranging to 10% up to 50% (Liu et al. 2014). African and Asian *Xoo* strains are genetically distant from each other and differ by many traits. On the one hand, they are known to promote specific resistance, Quantitative Trait Loci (QTLs) and genes, in another hand they display a different number of *tal* genes, with a reduced TALome for African *Xoo* strains with up to 9 *tal* genes versus up to 19 for Asian strains (Gonzalez et al. 2007; Salzberg et al. 2008).

In previous studies, several QTLs conferring resistance to the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 were evidenced in IR64 through the use of Recombinant Inbred Lines (RILs) from the cross between the elite *indica* rice variety IR64 and the *japonica* landrace Azucena (Djedatin et al. 2016; Lachaux et al. in prep). Two of them, identified on chromosome 7 (*qABB-7*) and 11 (*qABB-11*), have a large effect explaining 36% and 18% of the phenotypic variance observed upon the inoculation of MAI1 and BAI3, respectively (Lachaux et al. in prep). In addition, the resistance

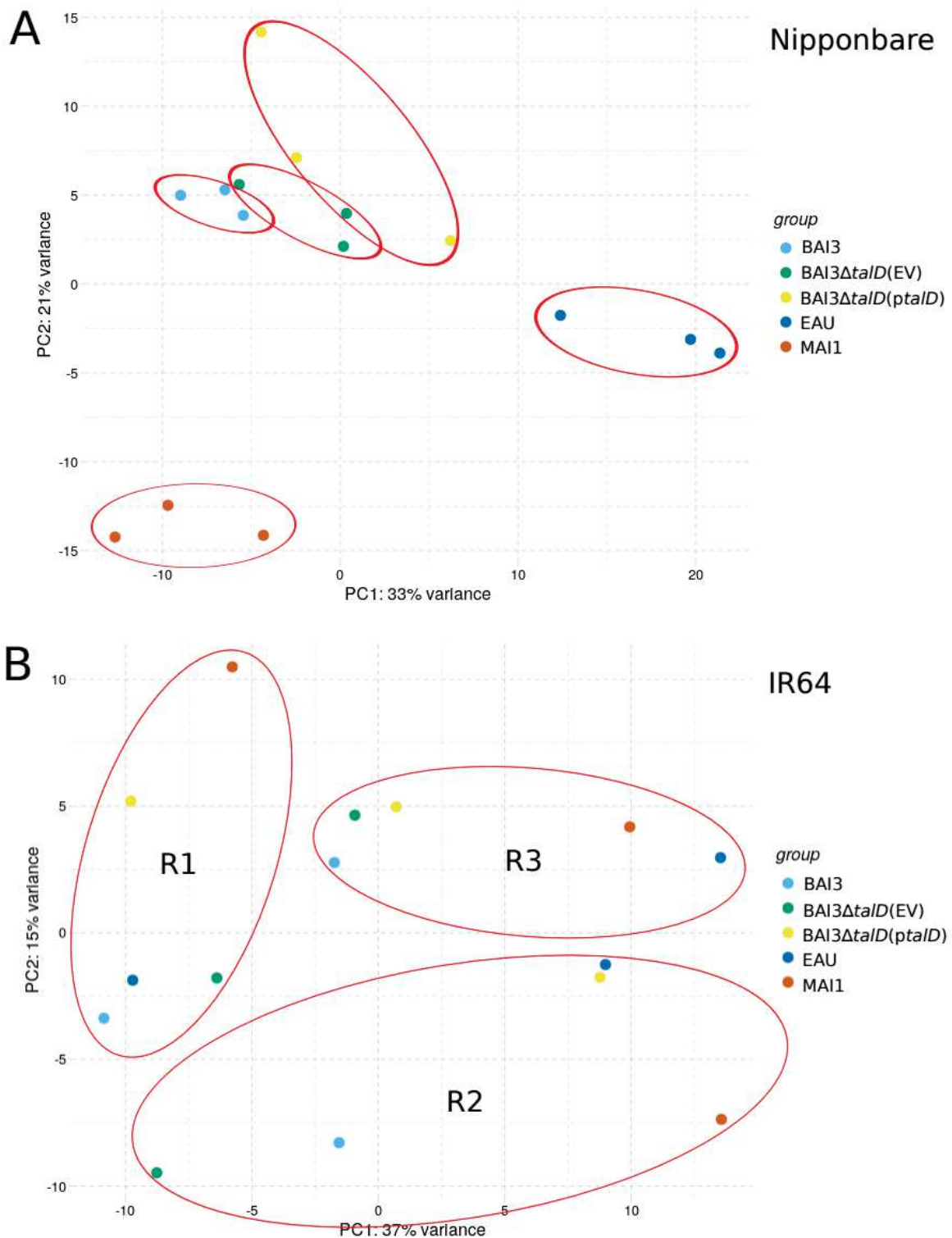


Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries.

Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries was evaluated. Dots represent the different treatments applied to the rice varieties Nipponbare (A) and IR64 (B). Red circles surround samples from the same treatment (A) or biological replicate (B).

QTL *qABB-11* identified in response to MAI1 and BAI3, was reported to be more specifically highlighted by TalD which is conserved between both strains. In this study, we first aimed at determining if the resistance in IR64 promoted by TalD is activation domain dependent. Our results show that the deletion of the activation domain of TalD impaired its avirulence activity on IR64. To go further on this lead, a transcriptome analysis was carried out with a strain mutated for the avirulent TALE in order to sort out differentially expressed genes in comparison to the wild type strain BAI3 and identify candidates that may act as *E* genes. Furthermore, transcriptional responses of susceptible and resistant rice varieties to the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 was studied. We report here on the identification of several candidate genes responding to MAI1 and BAI3 and more specifically to TalD.

Results

The transcriptional activation domain of TalD is required to trigger resistance on IR64

In previous work we reported the avirulence activity of TalD on the rice variety IR64 (Lachaux et al. preprint). Herein to test whether the resistance promoted by TalD relies on the induction of an *E* gene, the acidic activation domain of this TALE was deleted (*ptalDΔAD*). The wild-type African *Xoo* strain BAI3, and the mutant strain BAI3Δ*talD* carrying either an empty vector (EV), TalD (*ptalD*) or its activation domain deleted (*ptalDΔAD*) derivatives, were inoculated on the resistant rice variety IR64 and the susceptible control landrace Azucena (Fig. 1). Leaf-clip inoculation of the three mutant strains produced WT-like symptoms on Azucena, indicating that virulence of these strains is not affected. As previously reported, the inoculation of the mutant strain BAI3Δ*talD* carrying an empty vector displayed on IR64 an increase in lesion lengths compared to the wild-type strain BAI3, while when a plasmid-borne copy of *talD* was expressed avirulence was fully restored. In contrast, the activation domain mutant *ptalDΔAD* did not allow to restore the avirulence phenotype of BAI3Δ*talD* on IR64 (Fig. 1). Western-blot analysis verified that TalD and TalDΔAD accumulate at comparable levels (Fig. S1). Overall, these results indicate that TalD relies on its acidic activation domain to promote resistance in IR64, which would likely rely on the induction of an *E* gene.

Assessment of IR64 and Nipponbare RNAseq libraries

Having identified in a previous study several QTLs of resistance to MAI1 and BAI3 including one specific of TalD on the chromosome 11 in IR64 (Chapter 2, Lachaux et al. in prep), and based on the assumption that at least TalD transcriptionally activates an *E* gene, we initiated a RNAsequencing-based transcriptome profiling to identify candidate *R* genes. The resistant rice variety IR64 and the susceptible variety Nipponbare, whose genomes are publicly available, were

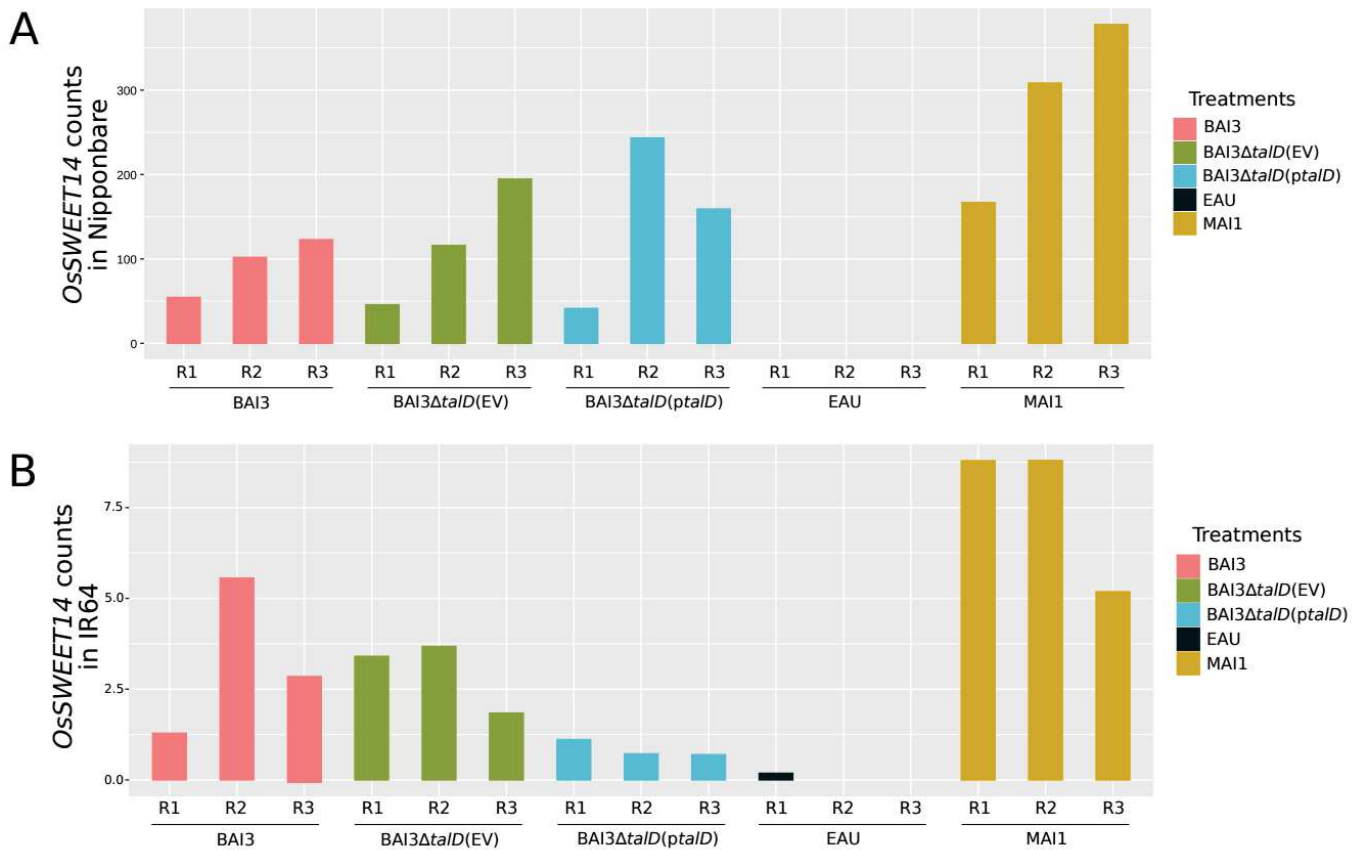


Figure 3. Differential gene expression of *OsSWEET14* in Nipponbare and IR64 rice varieties.

Leaves of 3-week-old Nipponbare (A) and IR64 (B) rice varieties were infiltrated with wild-type *Xoo* strains MAI1 and BAI3 the BAI3 Δ talD mutant complemented with either an empty vector (EV) or talD (*ptalD*), and with water as mock control. Gene expression level of the virulence target genes *OsSWEET14* was determined using HTseq-count (v0.6.0) (Anders et al. 2015), and normalized using reads per million mapped reads values.

leaf infiltrated with the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and the mutant strain BAI3 Δ *talD* carrying an empty vector or complemented with *talD*.

RNAseq libraries were generated from leaf tissues collected 24 hours post-inoculation. As a reference for infection status, the induction of the *S* gene *OsSWEET14* which is known to be over-expressed by the *Xoo* strains MAI1 and BAI3 (Streubel et al. 2013), was evaluated in our biological samples in order to assess their quality prior sequencing. Even though, no disease symptoms was observed on the leaves 24 hours post-infiltration, the up-regulation of *OsSWEET14* by the four African *Xoo* strains is detected in Nipponbare and IR64 (Fig. S2).

Each library comprised a minimum of 20 million paired-end reads with an average of 23.2 million reads, and with an average read length of 300 nucleotides. The genomes of Nipponbare and IR64, publicly available on the Rice Genome Hub platform (Droc et al. 2019), were used to map those reads using STAR (v020201) (Dobin et al. 2013). Overall, the libraries had around 93% of reads mapping to the genome and percentages were similar between Nipponbare and IR64. Next, HTseq-count (v0.6.0) (Anders et al. 2015) was used with the mapping results to count the number of reads assigned to each gene to report their expression values. Similar number of reads were mapped to genes in total in each library. Afterwards, according to a Principal Component Analysis (PCA), the Nipponbare libraries tended to group by treatments, while the IR64 libraries group according to biological replicate (Fig. 2). In order to compare the different treatments, differential expression of each gene was calculated using DESeq2 (Love et al. 2014) and EgdeR (Robinson et al. 2009). To facilitate comparisons across IR64 and Nipponbare genomes, reciprocal blast between the two genomes was performed to identified orthologs, identifying 30,990. Of these 53 and 59 ortholog pairs were identified as differentially expressed in response to BAI3 and MAI1, respectively, in both genomes IR64 and Nipponbare, when compared to a mock control.

The *S* gene *OsSWEET14*, previously used as a marker of infection to assess, prior sequencing, the RNA libraries quality, was afterwards searched in each RNAseq library to evaluate its induction pattern. *OsSWEET14* was found induced in each library except in the mock controls but, unexpectedly, had much lower normalized counts in IR64 libraries compared to Nipponbare libraries (Fig. 3). To ensure that this was not due to a faulty assembly or annotation of the IR64 genome, the reads of each IR64 libraries were also mapped on the Nipponbare genome. The IR64 libraries had similar percentage of reads mapping to the Nipponbare genome as previously observed on the IR64 genome and the level of expression of *OsSWEET14* was similar regardless of the genome used for mapping, meaning the transcriptomic results observed are not related to a genome

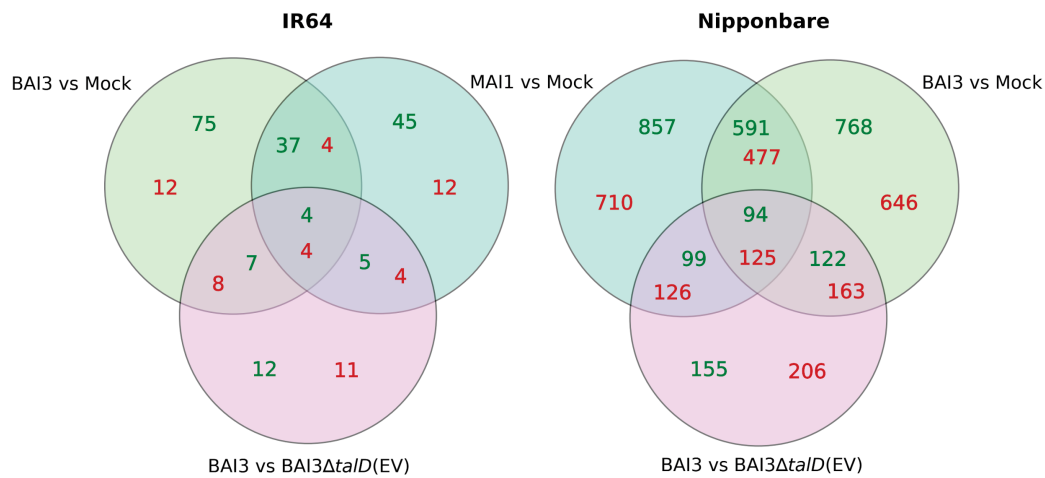


Figure 4. Venn diagram of differential expressed genes in IR64 and Nipponbare, upon the inoculation of MAI1, BAI3 and the BAI3ΔtalD(EV) mutant strains.

IR64 and Nipponbare rice varieties were inoculated with the African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and the BAI3ΔtalD(EV) mutant, and with water as mock control. The number of up-regulated (green) and down-regulated (red) genes between the different comparisons are indicated within circles.

issue but probably to a biological or technical issue. It is possible that for some unknown reason, the IR64 samples did not capture enough cells or tissues responsive to the bacteria, resulting in a diluted transcriptome, which also explains the lack of grouping according to treatment in the PCA of the IR64 libraries. Another possibility is that the time point (24 hours) used was not appropriate to this experiment.

Concerning the *BAI3ΔtalD(ptalD)* strain, the transcriptome profile expected was the same as the wild-type strain *BAI3*, with a higher expression profile of the genes potentially induced by *TalD* (directly and indirectly), in IR64. Unfortunately, the RNAseq libraries of this strain displayed an expression profile similar as the mock condition in IR64 and Nipponbare. We assumed then another problem had occurred in the process of this experiment, so the *BAI3ΔtalD(ptalD)* strain libraries have been removed from the analyses.

Differential expression of genes in resistant and susceptible varieties upon *BAI3*, *MAI1* wild-type strains, and the *BAI3ΔtalD(EV)* mutant strain

Differential expression of genes was assessed using a threshold of Log_2FC (Fold Change) superior and inferior to 1 and -1 respectively, and an adjusted p.value ≤ 0.1 (calculated with either DESeq2 or EdgeR), moreover three comparisons were evaluated. First, the wild-type strains *MAI1* and *BAI3* were compared to the mock control condition, in IR64 and Nipponbare. In IR64, 57 genes were found to be differentially expressed by *MAI1*, including 45 genes up-regulated and 12 genes down-regulated. Regarding *BAI3*, 87 genes were detected differentially expressed, with 75 genes up-regulated and 12 genes down-regulated. On the other hand, 857 and 710 genes were respectively up- and down-regulated by *MAI1*, and 768 and 646 genes were up- and down-regulated by *BAI3*, in Nipponbare. Next, the differential gene expression induced by the wild-type strain *BAI3* compared with the mutant strain *BAI3ΔtalD(EV)* was evaluated. In the resistant variety IR64, 12 and 11 genes were found to be up and down-regulated, respectively, by the wild-type strain. While on Nipponbare, 155 and 206 genes were detected as up- and down-regulated by *BAI3*. The fact that there are more differentially induced genes in Nipponbare than in IR64, could be justified by the respectively weak vs. strong difference between treatments, as shown in the PCA (Fig. 2) .

Then, the intersection of the two comparisons in IR64, *BAI3* vs. mock and *BAI3* vs. *BAI3ΔtalD(EV)*, revealed seven and eight genes commonly up- and down-regulated. Furthermore, 37 and 4 genes were listed to be up- and down-regulated in IR64, by both strains *MAI1* and *BAI3* (Fig. 4). Among those 37 up-regulated genes, 4 were also identified as up-regulated by *BAI3* in

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	Gene expression level ^c (Count/Million)				Ortholog DE ^d	QTL ^e	EBE prediction for TalD ^f					
			BAI3	BAI3 Δ talD(EV)	Mock	MAI1			EBE predicted in IR64	Rank	Score	EBE predicted in Nipponbare	Rank	Score
<i>OsIR64_03g045980</i>	<i>LOC_Os03g61760</i>	Squamosa promoter binding protein-like 6	414.7915	101.4343	101.9531	258.4836	TRUE	FALSE	TRUE	2	13.747	TRUE	3	13.581
<i>OsIR64_07g032900</i>	<i>LOC_Os07g48760</i>	CBL-interacting protein kinase 3	7.9138	0.2632	0.4479	5.0145	TRUE	FALSE	TRUE	306	10.501	TRUE	421	10.364
<i>OsIR64_09g020440</i>	<i>LOC_Os09g34214</i>	Glycosyltransferase	12.5095	6.1651	3.4498	7.1850	TRUE	FALSE	FALSE	NA	NA	FALSE	NA	NA
<i>OsIR64_12g016550</i>	<i>LOC_Os12g31000</i>	PUM-HD domain-containing protein	0.3232	0.1539	0.0794	1.2593	TRUE	FALSE	FALSE	NA	NA	FALSE	NA	NA

Table 1. Common differentially expressed genes induced by BAI3 and MAI1.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation.

^c Gene expression levels were normalized using fragments per kb of exons per million mapped reads values.

^d Ortholog identified and differentially expressed (DE) in Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

^f Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

comparison to the mutant strain *BAI3ΔtalD(EV)* (Table 1; Fig. 4). These four genes represent great candidate *E* genes induced by TalD.

In Nipponbare, 122 and 163 genes were revealed to be up- and down-regulated by BAI3 when compared to the mock control and the mutant strain (Fig. 4). Moreover 591 and 477 genes were identified to be commonly up- and down-regulated by MAI1 and BAI3 by comparison with the mock control (Fig. 4). Finally, 94 up-regulated and 125 down-regulated genes were found to be commonly induced in Nipponbare by MAI1 and BAI3 when compared to the mutant strain and the mock control (Fig. 4). Those 94 up-regulated include the 4 candidate *E* genes previously identified in IR64 (Table 1).

Next, gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock controls, in the resistant and susceptible conditions, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with a $p\text{-value} \leq 0.05$ (Droc et al. 2019). LOC_ID from Nipponbare orthologs were used for GO enrichment of IR64 differentially expressed genes. As shown in the Fig. S3, in the susceptible condition (Nipponbare) several genes involved in the photosynthesis pathway are down-regulated by MAI1 and BAI3, which coincides with the infection process of *Xoo*. In addition, genes of the hydrogen peroxide (H_2O_2) metabolic and catabolic processes are up-regulated by BAI3, reflecting the perception of the pathogen (Fig. S3). In the resistant condition (IR64), genes involved in various biosynthetic processes, such as polysaccharide, carbohydrate or phenylpropanoid processes, are down-regulated by MAI1 and BAI3 (Fig. S4). No GO enrichment was found for up-regulated genes in IR64 by MAI1 and BAI3.

Prediction of candidate genes targeted by TalD

The top 1000 predicted target genes of TalD in each genome (IR64 and Nipponbare) were then highlighted through the Talvez program v.3.2 (Pérez-Quintero et al. 2013). Talvez scores ranged from 9.3 to 14.1 in IR64, and from 9.5 to 13.9 in Nipponbare. Of the 1000 potential candidate targets of TalD, 7 and 110 were present among the differentially expressed genes in IR64 and Nipponbare, respectively, pooling all conditions.

Next, we examined the four up-regulated genes in IR64, that were differentially expressed by BAI3 and MAI1 compared to the mock control, and in the condition BAI3 vs *BAI3ΔtalD(EV)* (Fig. 4). Out of these four genes two, *OsIR64_03g045980* and *OsIR64_07g032900*, coding for a "Squamosa promoter binding protein-like 6" (SPL6) and a "CBL-interacting protein kinase 3" (CIPK3) respectively, contained predicted EBE sequence for TalD in their promoter. According to Talvez their rank positions were 2 and 306, and their scores were 13.7 and 10.5, respectively. These two

	TAL_ID	SEQ_ID ^a	Annotation	Chromosome	Strand	SCORE ^b	EBE strand ^c	TALBS_ distance_from _end ^d	TALBS_start ^e	TALBS_end ^e	TALBS_ sequence ^e	RANK ^f
QTL <i>qABB-11</i>	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>1130</i>	Expressed protein	Chr 11	-	10.156	+	-194	807	830	TACCCAGCT ATATCCCAA CCCCA	465
	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>1180</i>	Conserved hypothetical protein	Chr 11	-	9.925	-	-147	831	854	AACAGCTCT CTATCCCATC CTCC	601
	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>3100</i>	Expressed protein	Chr 11	+	9.801	+	-99	902	925	TACGCGTGT CAATTCCAT CAgca	670

Table 2. Genes in the QTL interval of *qABB-11* with a binding site predicted for TalD.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Talvez program was used to score the interaction between TalD and the EBE sequence ; the higher the score it is the greater is the interaction.

^c Talvez program was used to evaluate the position of EBE_{TalD} on the genome strand of IR64.

^d TalD binding site (TALBS) position from the end of the 1000bp selected from the ATG sequence.

^e TalD binding site (TALBS) start/end position, and the genome sequence bound.

^f Rank position among the top 1000 potential TalD targets.

genes had their Nipponbare orthologs, *LOC_Os03g61760* and *LOC_Os07g48760*, also differentially expressed and with the same EBE sequence predicted. Their respective rank positions and scores, were 3 and 421, and 13.5 and 10.3, based on Talvez (Table 1). The protein sequence of these two genes were then compared between orthologs. The protein sequence of CIPK3 was exactly the same between IR64 and Nipponbare, while the protein sequence of SPL6 has two inserted sequences, of 28 and 10 amino-acids, in the IR64 protein versus the Nipponbare one (Fig. S5).

Transcriptional response and TalD binding site predictions of genes located in the QTL intervals revealed by BAI3 and MAI1 in IR64

In previous study five resistance QTLs located in IR64 were revealed by the presence of the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively on chromosomes 3 (*qABB-3a*), 4, 7 and 11, and on chromosomes 3 (*qABB-3b*) and 11. The QTL on chromosome 11, *qABB-11*, being shared by both strains, was the first analyzed for deregulated genes in response to MAI1 and BAI3. Unfortunately, no differentially expressed genes present in the IR64 RNAseq libraries was found in this QTL, whereas three genes (two expressed proteins and one conserved hypothetical protein) located in this QTL were identified to have an EBE for TalD (Table 2). Among these three genes only one, *OsIR64_11g033100*, has also an EBE for TalD in its ortholog (*LOC_Os11g47790*) promoter.

Regarding the second QTL revealed by BAI3, *qABB-3b*, only one gene differentially expressed, *OsIR64_03g006810*, and annotated as a "detoxification" protein, was identified at the QTL (+/- 1 Mbp out of the interval). The ortholog in Nipponbare, *LOC_Os03g08900*, was also identified as differentially expressed (Table 3) and encodes for a MATE transporter.

Concerning the three other QTLs conferring resistance to MAI1 in IR64, one gene was reported in each QTL on chromosomes 4 and 7 (+/- 1 Mbp out of the interval), and no gene was reported in the QTL on chromosome 3 (*qABB-3a*) (Table 3).

A closer look at each technical replicate

As the assessment of the libraries showed that the transcriptome of the IR64 libraries might be diluted, we decided to examine each technical replicate one by one, in order to identify more differentially expressed genes in the QTL *qABB-11*. Several genes located in *qABB-11* (+/- 1 Mbp out of the interval) were identified differentially expressed in at least one of the three technical replicates, when comparing the wild-type strain BAI3 and the mock conditions in IR64 (Table 4). Among these genes three, *OsIR64_11g033220*, *OsIR64_11g032900* and *OsIR64_11g033060*, coding for a "GRAS-domain containing protein", a "putative xylanase inhibitor protein 1" and a "non coding RNA" respectively, were identified in two of the three replicates. None of these three

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	Gene expression level ^c (Count/Million)				Ortholog DE ^d	QTL ^e	EBE predicted in IR64 ^f
			BAI3	BAI3 Δ talD(EV)	Mock	MAI1			
<i>OsIR64_03g006810</i>	<i>LOC_Os03g08900</i>	Detoxification protein	212.9686	176.6330	87.7731	88.0699	TRUE	<i>qABB-3b</i>	FALSE
<i>OsIR64_04g014960</i>	<i>LOC_Os04g33150</i>	Desiccation-related protein PCC13-62	8.0437	13.6094	3.0215	7.9804	TRUE	<i>qABB-4</i>	FALSE
<i>OsIR64_07g006980</i>	<i>LOC_Os07g08800</i>	Expressed protein	1.9302	3.1067	1.7927	5.5221	FALSE	<i>qABB-7</i>	FALSE

Table 3. Differentially expressed genes located in the QTLs in IR64 revealed by MAI1 and BAI3.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation.

^c Gene expression levels were normalized using reads per million mapped reads values.

^d Ortholog identified and differentially expressed (DE) in Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

^f Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

genes is differentially expressed in Nipponbare variety comparing BAI3 and mock conditions. However, none of these genes have a predicted EBE for TalD in both genomes.

While no gene was found to fulfill all the expected criteria for an *E* gene: differential expression, overlap with QTL, and presence of an EBE, several genes fulfill one or more of these conditions and are likely to be involved in the resistance response of IR64 against MAI1 and/or BAI3. These candidate genes are summarized in the Table 5.

Discussion

In this study, we demonstrated that the avirulence factor TalD previously identified (Lachaux et al. preprint) relies on its activation domain to induce resistance in IR64, suggesting hence an *E* gene is involved. In 2012, Strauß et al. used transcriptome analysis to identify the *E* gene *Bs4C* from pepper. They were the first to use RNAseq analysis to sort out an *E* gene. They went from 16,220 differentially expressed genes in the RNAseq to 32 candidate genes and finally selected 1 whose corresponding reads were detectable only in the resistant parent but not in the susceptible one. Using an F₂ population allowed them to reveal the complete linkage of the candidate locus and the *Bs4C*-triggered HR. Next, the comparison of the allele sequences between resistant and susceptible variety showed that they differ in their predicted promoter and coding sequences, and further experiments demonstrated that the induction of the *Bs4C*-triggered HR relies on the promoter polymorphism (Strauß et al. 2012). Finally, they used the TALE code to predict the sequence in the promoter of *Bs4C* that would be bound by AvrBs4. To date, despite what the *Bs4C* case shows, finding an *E* gene has often been tricky, even when genomic and transcriptomic data exist, as in the identification of *Xa7*. This gene was identified by RNAseq, but previously it was fine-mapped and was difficult to identify for several years (Luo et al. 2021).

In this study we expected to identify candidate *E* genes that were differentially expressed in RNAseq data, contained a predicted TALE binding site and collocated with identified QTLs. No candidate gene that would have been sorted out by the combination of all three approaches was found which might be explained either by technical reasons related to biases and limitations of the data used, or to biological reasons related to the nature of the *R* gene. Concerning RNAseq, we identified potential problems with IR64 treatments, mainly that there was not a clear effect of the treatments in the transcriptome, maybe caused by biological or technical issues, which lead us to repeat the experiment in the future. Despite this potential inconvenient, as said there might also be biological reasons why the target would be not found. For example, the timing of the evaluation of the samples

Name IR64 ^a	Annotation	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3
<i>OsIR64_11g031440</i>	Protein kinase domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g031510</i>	Expressed protein	x		
<i>OsIR64_11g031560</i>	Conserved hypothetical protein	x		
<i>OsIR64_11g032020</i>	Jacalin-type lectin domain-containing protein			x
<i>OsIR64_11g032080</i>	Os11g0681600 protein	x		
<i>OsIR64_11g032490</i>	Protein kinase domain-containing protein	x		
<i>OsIR64_11g032710</i>	Receptor kinase TRKc	x		
<i>OsIR64_11g032820</i>	Myb-related protein MYBAS1	x		
<i>OsIR64_11g032860</i>	Glycosyl-hydrolase-18 domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g032900</i>	putative xylanase inhibitor protein 1	x		x
<i>OsIR64_11g032970</i>	RING-type domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g033060</i>	non-coding RNA	x	x	
<i>OsIR64_11g033220</i>	GRAS-domain containing protein		x	x

Table 4. List of candidate genes differentially expressed between BAI3 and mock conditions in IR64, located in *qABB-11*.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>). NA means "non-annotated".

(24 hours) could be inadequate to identify the effect of TalD on the transcriptome; hence it would be interesting to try different time points to see if other candidate genes are revealed.

The identification of susceptibility genes through the use of transcriptome analyses is ideal as they are known to be strongly overexpressed when plant is infected by pathogens. Contrary to NLR proteins whose resistance mechanisms and transcriptome change related to their induction are well studied (Cui et al. 2015), the function of *E* genes is not as well understood and we have almost no insight on the level of expression needed to mediate resistance. Moreover, we don't have enough insight into the functions of *E* genes in the absence of bacterial challenge. The question remains whether *E* genes are repressed when there is no bacteria, as *E* genes can be considered as toxic for the plant (Zhang et al. 2015), or whether there is a basal expression in non-infectious condition and up-regulation under pathogen infection. In this study, differential expression of genes was assessed using a threshold of Log₂FC superior to 1 and inferior to -1, with an adjusted p.value of maximum 0.1. These default parameters, are commonly used in transcriptome analyses to ensure that few false positives are retained. However, it can be supposed that if the induced gene is considered toxic to the plant, only a very small amount would be needed to cause an HR, resulting in a low level of expression of this gene. In that case the differential expression of the *E* gene might not be retained regarding the default parameters.

Since the results of this study suggest that TalD promotes resistance dependent on the induction of an *E* gene, predictions of TALE binding sites for TalD in IR64 and Nipponbare were assessed with the Talvez program (Pérez-Quintero et al. 2013). In previous studies, EBE for avirulence genes were predicted in the first 1000bp of the promoter sequence of *E* genes (Römer et al. 2009; Strauß et al. 2012; Wang et al. 2015), therefore in the course of this study only this region was screened for EBE prediction. Herein, very few candidates of the RNAseq analyses were potentially targeted by TalD. When *Xa23* was identified, the predicted EBE for *AvrXa23* using the TALE-NT program had a score twice as high (indicating lower likelihood of binding) as those previously predicted for the avirulence genes *AvrXa10*, *AvrXa27*, *AvrBs3*, and *AvrBs4*, indicating that the RVDs of *AvrXa23* poorly match to the EBE_{*AvrXa23*} sequence (Wang et al. 2015). Concerning the *AvrXa27-Xa27* pair, the score predicted for the EBE sequence ranked extremely low (indicating lower likelihood of binding) with the Talvez program (Pérez-Quintero et al. 2013). With respect to these results, we could wonder if the poor prediction scores for known TAL effector - *E* gene pairs do not reflect something biological ; there could be a selection on the bacterial side against a good match with an *E* promoter to avoid binding. Thus, by limiting the list of candidate genes to the top 1000 potential targets we could miss the one we are interested in, as it is possible that TalD RVDs poorly match to the EBE_{TalD}

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	DE gene in IR64 ^c	EBE prediction for TalD ^d	QTL ^e
<i>OsIR64_03g045980</i>	<i>LOC_Os03g61760</i>	Squamosa promoter binding protein-like 6	x	x	
<i>OsIR64_07g032900</i>	<i>LOC_Os07g48760</i>	CBL-interacting protein kinase 3	x	x	
<i>OsIR64_09g020440</i>	<i>LOC_Os09g34214</i>	Glycosyltransferase	x		
<i>OsIR64_12g016550</i>	<i>LOC_Os12g31000</i>	PUM-HD domain-containing protein	x		
<i>OsIR64_03g006810</i>	<i>LOC_Os03g08900</i>	Detoxification protein	x		x
<i>OsIR64_04g014960</i>	<i>LOC_Os04g33150</i>	Desiccation-related protein PCC13-62	x		x
<i>OsIR64_07g006980</i>	<i>LOC_Os07g08800</i>	Expressed protein	x		x
<i>OsIR64_11g033060</i>	NA	non-coding RNA	x		x
<i>OsIR64_11g033220</i>	<i>LOC_Os11g47900</i>	GRAS-domain containing protein	x		x
<i>OsIR64_11g032900</i>	<i>LOC_Os11g47560</i>	putative xylanase inhibitor protein 1	x		x
<i>OsIR64_11g031130</i>	NA	Expressed protein		x	x
<i>OsIR64_11g031180</i>	NA	Conserved hypothetical protein		x	x
<i>OsIR64_11g033100</i>	NA	Expressed protein		x	x

Table 5. List of candidate genes involved in MAI1 and/or BAI3 resistance in IR64.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation. NA means "non-annotated".

^c Gene differentially expressed (DE) in IR64.

^d Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

sequence. Another possibility is that the gene inducing resistance in IR64 is a secondary target of TalD, and that TalD is inducing a transcription factor, at a low expression level, that will in turn induce the expression of an *R* gene whose expression will be higher than in the mock and/or susceptible conditions. This hypothesis would explain why a perfect match cannot be found in the different list of gene candidates between RNAseq, mapping and, TALE binding site predictions.

However, some of our candidates are interesting even if they don't match all the conditions. In a scenario where the gene responsible for resistance is targeted by TalD in both conditions (resistance and disease), but that the resistance activity is due to polymorphisms in the coding region, the gene *OsIR64_03g045980* coding for a SPL6 transcription factor would be a promising candidate. Squamosa Promoter binding Protein-Like (SPL) family genes encode transcription factors with a highly conserved DNA binding domain, known as SBP domain, and a bipartite nuclear localization signal motif, also highly conserved through the *SPLs* family (Klein et al. 1996; Cardon et al. 1999; Yamasaki et al. 2006). SPLs are usually known to be involved in the regulation of diverse processes, as plant growth, development, phytohormone signaling and stress responses (Zhong et al. 2019). In a previous study, an SPL6 transcription factor was reported in *Nicotiana benthamiana* to associates with the tobacco N immune receptor, an NLR protein that provides immunity against *Tobacco mosaic virus* (TMV). This association being detected only in the presence of the TMV effector, p50, it suggests that NbSPL6 is required for defense against TMV (Padmanabhan et al. 2013). Moreover, the presume ortholog of NbSPL6 in *Arabidopsis thaliana*, AtSPL6, has been pointed out to be required for the TIR-NB-LRR RPS4 immune receptor function against *Pseudomonas syringae* pv tomato (*Pst*) expressing the avrRps4 effector (Padmanabhan et al. 2013). Another candidate executor gene with a potential EBE for TalD is the CIPK3 serine-threonine protein kinase (*OsIR64_07g032900*) which is differentially expressed between the WT strain BAI3 and the mutant strain BAI3 Δ *talD*, but also in IR64 and Nipponbare, the resistant variety and the susceptible one. This candidate gene, unlike SPL6, has the exact same protein sequence in IR64 and Nipponbare. CIPK serine-threonine protein kinases are known to interact with calcineurin B-like (CBL) proteins. The latters are calcium sensor proteins that bind to the regulatory NAF domain of CIPK proteins, leading to the activation of the kinases in a calcium-dependent manner (Shi et al. 1999; Kim et al. 2000). The CBL-CIPK complex has been reported to be involved in various abiotic and biotic stress signaling, and more particularly in plant defense signaling in response to microbial infection (Pandey et al. 2014; Wang et al. 2016). Knowing that CIPKs form a complex with CBLs (Shi et al. 1999; Kim et al. 2000), it can be assumed that the protein sequence of the CIPK-interacting protein (CBL) is different in the two varieties, leading in one case to a resistance mechanism (IR64), and in another case to disease, due to lack of interaction between CIPKs and

CBLs (Nipponbare). Moreover, in a previous study it has been shown that OsCIPK31 interacts with diverse substrates in order to promote rice resistance against *Magnaporthe oryzae*, such as CBL2, CBL6, a VOZ transcription factor and the rice potassium channel protein OsAKT1 (Lin et al. 2021), hence expanding the list of candidate CIPK-interacting proteins. In addition, another study, reported the induction of two WRKY proteins, WRKY38 and WRKY62, by the salicylic acid-signaling activator, NPR1, activated and phosphorylated by CIPK11 after a bacterial infection (Xie et al. 2010). Regarding these two genes (*OsSPL6* and *OsCIPK3*), they encode a transcription factor and a kinase protein whose protein families are known to be involved in the activation of downstream pathways related to stress responses (Kolukisaoglu et al. 2004; Wang et al. 2018). Even if these genes are differentially expressed in both resistant and susceptible conditions, it is likely they induce, directly or not, a gene present in the QTL interval of *qABB-11* and which is either only present in the IR64 genome, or which has polymorphism in its coding sequence.

Regarding the genes in Table 4 differentially expressed in at least one of the three technical replicates, three of them *OsIR64_11g033220*, *OsIR64_11g032900* and *OsIR64_11g033060*, have been identified in two of the three replicates. These genes can be considered as good candidates for a novel type of BLB resistance gene as they are differentially expressed only in IR64 variety and they are located in the QTL interval of *qABB-11* revealed by MAI1 and BAI3 African *Xoo* strains. *OsIR64_11g033220*, coding for a GRAS-domain containing protein, represents a family of proteins which function as transcriptional regulators and play critical roles in development and signaling. GRAS-domain containing proteins are known to possibly interact with different types of transcription factors (TFs), such as basic helix-loop-helix type like Phytochrome interacting factors (PIFs), Spatula (STP), Alcatraz (ALC), and others classes of TFs, as Brassinazole Resistant1 (BZR1)/BES1, Ethylene Insensitive 3 (EIN3) or SPLs (Hakoshima 2018). *OsIR64_11g032900* encodes a putative xylanase inhibitor protein 1. Xylan is the major hemicellulose polymer in cell wall of cereals. To inhibit the hydrolytic activity of fungal and bacterial enzymes, like xylanase, from degrading the cell wall, plants produce xylanase inhibitors (Moscetti et al. 2015). A few studies reported that plants are able to sense the loss of cell wall integrity caused by the pathogen, and subsequently activate the defense signaling pathways (Bellincampi et al. 2014). Concerning *OsIR64_11g033060* gene, it produces non-coding RNAs, also named ncRNAs, they are usually grouped in two main classes: small (smRNAs) and long ncRNAs (lncRNAs). The first class is generally composed of RNA of less than 40 nucleotides (nts) in length which are involved in plant development and stress responses (Axtell 2013; Chitwood and Sinha 2014; Xie et al. 2015), whereas lncRNAs consist of 200 nts long, or more, RNA molecules, which do not encode any proteins. This second class of ncRNA are believed to be implied in different regulatory

mechanisms, such as histone and chromatin modifications, transcriptional regulation, target mimicking of miRNAs and post-transcriptional alterations (Yu et al. 2020).

Conclusions and Perspectives

Previously, we demonstrate the avirulence activity of TalD on IR64 (Lachaux et al. preprint). Here we report that this TALE depends on its activation domain to promote resistance, implying that TalD resistance in IR64 relies on the induction of an *E* gene. Through the combination of transcriptome analyses, binding-site prediction and mapping approach, candidate genes involved in the IR64 resistance against MAI1 and/or BAI3 were identified.

The next steps towards validation of these candidate genes are first to verify by RT-qPCR their induction in IR64 and Nipponbare, in infection condition (MAI1 or BAI3) vs. mock condition. If a candidate gene is also induced in Nipponbare, we will have to look more carefully at the coding sequence to see if there are polymorphisms between IR64 and Nipponbare sequences (as for the SPL6 protein), and for a possible secondary target of this gene that would be different between IR64 and Nipponbare. Afterwards, designer TALEs (dTALEs) could be generated and transformed into a virulent recipient, as PXO99^A, to see if there is a gain of resistance of IR64 by inducing these candidates. However, if a gain of resistance is observed upon the inoculation of one dTALE, it could be due to the induction of another gene ("off-target"). To avoid this risk, it will be necessary to design and test one or two other dTALEs targeting different sequences in the candidate gene promoter. We could also complement these previous analyses with ChIP-seq approach to improve the list of candidate genes targeted by TalD, or any other TALEs of MAI1 and BAI3.

Material and Methods

Bacterial strains and growth conditions

The bacterial strains used in this study are summarised in the Table X. *Xoo* strains were cultivated at 28°C in PSA medium (10 g peptone, 10 g sucrose, 1 g glutamic acid, 16 g agar, l⁻¹ H₂O). Rifampicin, kanamycin and gentamicin were added when appropriate to the medium at a final concentration of 100 µg/ml for each.

Plant material and plant inoculations

The resistant rice *indica* variety IR64, the susceptible *japonica* variety Nipponbare and the *japonica* landrace Azucena were used in this study. Experiments were performed under greenhouse conditions under cycles of 12 h of light at 28°C and 80% relative humidity (RH) and 12 h of dark at 25°C and 70% RH. Leaves of 3-week-old plants of IR64 and Nipponbare were inoculated by leaf-infiltration method (Schaad et al. 1996) with a bacterial suspension of an OD_{600nm} of 0.5. Three plants of each variety were inoculated with the *Xoo* strains MAI1, BAI3, BAI3Δ*talD*(EV) and BAI3Δ*talD*(*ptalD*) and with water as a "Mock" control, and the experiment was repeated three times. Leaves of 5-week-old plants were inoculated with the following *Xoo* strains MAI1, BAI3, BAI3Δ*talD*(EV), BAI3Δ*talD*(*ptalD*) and BAI3Δ*talD*(*ptalD*ΔAD) by leaf-clipping method on IR64 and Azucena with a bacterial suspension of an OD_{600nm} of 0.2. Lesion lengths were scored 15 days post inoculation (dpi) on a minimum of eight plants, and the experiment was repeated three times.

RNA isolation and qRT-PCR

Leaves of 3-week-old rice plants were infiltrated with water or *Xoo* strains using an OD₆₀₀ of 0.5. At 24 hours post-inoculation, leaf segments from three plants were ground into a fine powder using the Qiagen Tissue-Lyser system (30 rps for 30 s, two times). Total RNA was isolated from rice leaves using Quiagen RNeasy plant mini kit following the manufacturer's recommendations (Quiagen). cDNA was generated from 1.6 µg RNA using the SuperScript ® III First-Strand Synthesis System for RT-PCR following the manufacturer's recommendations (Invitrogen). Real-time PCR was performed on the Mx3005p multiplex quantitative PCR system (Stratagene, La Jolla, CA, USA), using 3.5 µl of the Mesa blue 2X PCR MasterMix for SYBR® Green (Eurogentec, <http://www.eurogentec.com>), 2 pmol forward primer, 2 pmol reverse primer and 2 µl of the RT product diluted 10 times. For each gene, three independent biological replicates were analyzed. cDNA amounts were normalized using actin as housekeeping gene.

Bioinformatic analyses

STAR (Spliced Transcripts Alignment fo a Reference) software (Dobin et al. 2013) was used to map reads against the *Oryza sativa* cv. Nipponbare (version MSU7) and cv. IR64 (Rice Genome Hub platform versions; (Zhou et al. 2020) genomes. The count values for each transcripts generated were obtained using HTseq-count (Anders et al. 2015), and their differential expression was assessed using EdgeR (adjusted p.value = 0.1) (Robinson et al. 2009) and DESeq2 (adjusted p. value = 0.1) (Love et al. 2014).

Regarding EBE prediction, the software Talvez v.3.2 (default parameters) (Pérez-Quintero et al. 2013) used the 1000 bp located upstream of the translation start site of each gene to predicted binding sites for TalD in the two rice genomes. The top 1000 predicted targets with best score were kept for analyses.

Expression Analysis by Western Blotting

The *Xoo* strains carrying plasmid encoding native TALE or empty vector (pSKX1), were grown in liquid PSA medium supplemented with the corresponding antibiotics at 28°C. Cells of 1 ml of a bacterial suspension at an OD₆₀₀ of 0.4 were harvested and lysated with Laemmli buffer. TALE expression was analyzed by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of 4-15% and immunoblotted using the anti-TALE polyclonal antibody produced by (Read et al. 2016) followed by a horseradish peroxidase conjugated rabbit secondary antibody (Sigma-Aldrich). Detection was carried out using the Thermo Scientific™ Pierce™ ECL 2 Western Blotting Substrate kit and a Typhoon™ FLA 9500 (General Electric Healthcare Life Sciences, USA) for imaging.

References

- Anders S, Pyl PT, Huber W (2015) HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* 31:166–169. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTU638>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Axtell MJ (2013) Classification and comparison of small RNAs from plants. *Annu Rev Plant Biol* 64:137–159. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120043>
- Bellincampi D, Cervone F, Lionetti V (2014) Plant cell wall dynamics and wall-related susceptibility in plant-pathogen interactions. *Front. Plant Sci.* 5:228
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512. <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Cardon G, Höhmann S, Klein J, et al (1999) Molecular characterisation of the Arabidopsis SBP-box genes. *Gene* 237:91–104. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00308-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00308-X)
- Chen L-Q (2014) SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. *New Phytol* 201:1150–1155. <https://doi.org/10.1111/NPH.12445>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chitwood DH, Sinha NR (2014) Plant development: Small RNAs and the metamorphosis of leaves. *Curr Biol* 24:R1087–R1089. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.013>
- Cox KL, Meng F, Wilkins KE, et al (2017) TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. *Nat Commun* 8:15588. <https://doi.org/10.1038/ncomms15588>
- Cui H, Tsuda K, Parker JE (2015) Effector-Triggered Immunity: From Pathogen Perception to Robust Defense. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040012> 66:487–511. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ARPLANT-050213-040012>
- Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, et al (2013) STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics* 29:15–21. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTS635>
- Droc G, Dereeper A, Ruiz M, et al (2019) The south green rice genome hub

- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gu K, Sangha JS, Li Y, Yin Z (2008) High-resolution genetic mapping of bacterial blight resistance gene Xa10. *Theor Appl Genet* 116:155–163. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0655-5>
- Gu K, Tian D, Yang F, et al (2004) High-resolution genetic mapping of Xa27(t), a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 108:800–807. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1491-x>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Hakoshima T (2018) Structural basis of the specific interactions of GRAS family proteins. *Febs Lett* 592:489. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12987>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Jacques M-A, Arlat M, Boulanger A, et al (2016) Using Ecology, Physiology, and Genomics to Understand Host Specificity in *Xanthomonas*. *Annu Rev Phytopathol* 54:163–187. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100147>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Kim KN, Cheong YH, Gupta R, Luan S (2000) Interaction Specificity of Arabidopsis Calcineurin B-Like Calcium Sensors and Their Target Kinases. *Plant Physiol* 124:1844–1853. <https://doi.org/10.1104/PP.124.4.1844>
- Klein J, Saedler H, Huijser P (1996) A new family of DNA binding proteins includes putative transcriptional regulators of the *Antirrhinum majus* floral meristem identity gene SQUAMOSA. *Mol Gen Genet* 250:7–16. <https://doi.org/10.1007/BF02191820>
- Kolukisaoglu Ü, Weigl S, Blazevic D, et al (2004) Calcium Sensors and Their Interacting Protein Kinases: Genomics of the Arabidopsis and Rice CBL-CIPK Signaling Networks. *Plant Physiol* 134:43–58. <https://doi.org/10.1104/pp.103.033068>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>
- Lin QJ, Kumar V, Chu J, et al (2021) CBL-interacting protein kinase 31 regulates rice resistance to blast disease by modulating cellular potassium levels. *Biochem Biophys Res Commun* 563:23–30. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.05.065>

- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Love MI, Huber W, Anders S (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol* 15:1–21. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Moscetti I, Faoro F, Moro S, et al (2015) The xylanase inhibitor TAXI-III counteracts the necrotic activity of a *Fusarium graminearum* xylanase in vitro and in durum wheat transgenic plants. *Mol Plant Pathol* 16:583–592. <https://doi.org/10.1111/mpp.12215>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Padmanabhan MS, Ma S, Burch-Smith TM, et al (2013) Novel Positive Regulatory Role for the SPL6 Transcription Factor in the N TIR-NB-LRR Receptor-Mediated Plant Innate Immunity. *PLoS Pathog* 9:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003235>
- Pandey GK, Kanwar P, Pandey A (2014) Global Comparative Analysis of CBL-CIPK Gene Families in Plants. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-09078-8>
- Pérez-Quintero AL, Rodriguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK (2009) edgeR: A Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics* 26:139–140. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Römer P, Recht S, Lahaye T (2009) A single plant resistance gene promoter engineered to recognize multiple TAL effectors from disparate pathogens. *Proc Natl Acad Sci* 106:20526–20531. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0908812106>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Schaad N, Wang Z, Di M, et al (1996) An improved infiltration technique to test the pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice seedlings
- Schorneck S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>

Shi J, Kim KN, Ritz O, et al (1999) Novel Protein Kinases Associated with Calcineurin B–like Calcium Sensors in Arabidopsis. *Plant Cell* 11:2393–2405.
<https://doi.org/10.1105/TPC.11.12.2393>

Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to Xanthomonas oryzae pv. oryzae. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>

Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>

Wang QL, Sun AZ, Chen ST, et al (2018) SPL6 represses signalling outputs of ER stress in control of panicle cell death in rice. *Nat Plants* 4:280–288. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0131-z>

Wang Y, Sun T, Li T, et al (2016) A CBL-Interacting Protein Kinase TaCIPK2 Confers Drought Tolerance in Transgenic Tobacco Plants through Regulating the Stomatal Movement. *PLoS One* 11:e0167962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167962>

Wu L, Mei LG, Sreekala C, 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. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123356>

Xie C, Zhou X, Deng X, Guo Y (2010) PKS5, a SNF1-related kinase, interacts with and phosphorylates NPR1, and modulates expression of WRKY38 and WRKY62. *J Genet Genomics* 37:359–369. [https://doi.org/10.1016/S1673-8527\(09\)60054-0](https://doi.org/10.1016/S1673-8527(09)60054-0)

Xie F, Jones DC, Wang Q, et al (2015) Small RNA sequencing identifies miRNA roles in ovule and fibre development. *Plant Biotechnol J* 13:355–369. <https://doi.org/10.1111/pbi.12296>

Yamasaki K, Kigawa T, Inoue M, et al (2006) An Arabidopsis SBP-domain fragment with a disrupted C-terminal zinc-binding site retains its tertiary structure. *FEBS Lett* 580:2109–2116. <https://doi.org/10.1016/J.FEBSLET.2006.03.014>

Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>

Yu Y, Zhou YF, Feng YZ, et al (2020) Transcriptional landscape of pathogen-responsive lncRNAs in rice unveils the role of ALEX1 in jasmonate pathway and disease resistance. *Plant Biotechnol J* 18:679–690. <https://doi.org/10.1111/pbi.13234>

Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>

Zhong H, Kong W, Gong Z, et al (2019) Evolutionary Analyses Reveal Diverged Patterns of SQUAMOSA Promoter Binding Protein-Like (SPL) Gene Family in *Oryza* Genus. *Front Plant Sci* 0:565. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.00565>

Zhou Y, Chebotarov D, Kudrna D, et al (2020) A platinum standard pan-genome resource that represents the population structure of Asian rice. *Sci Data* 2020 71 7:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41597-020-0438-2>

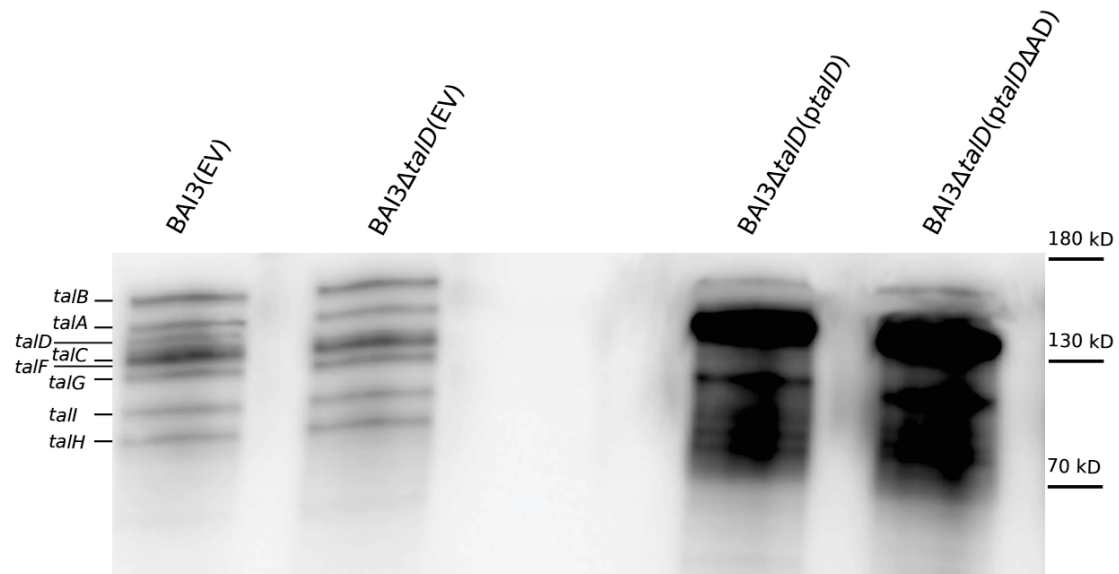


Figure S1. Western blot of total protein extracts of *Xoo* using an anti-TALE polyclonal antibody.

Western blot assay of the *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector (pSKX1_EV), the BAI3Δ*talD* mutant carrying an empty vector (pSKX1_EV), and the BAI3Δ*talD* mutant complemented with *talD* or *talD*ΔAD. The wild type strain BAI3 contains *tal* genes indicated on the left. Molecular weight is indicated on the right.

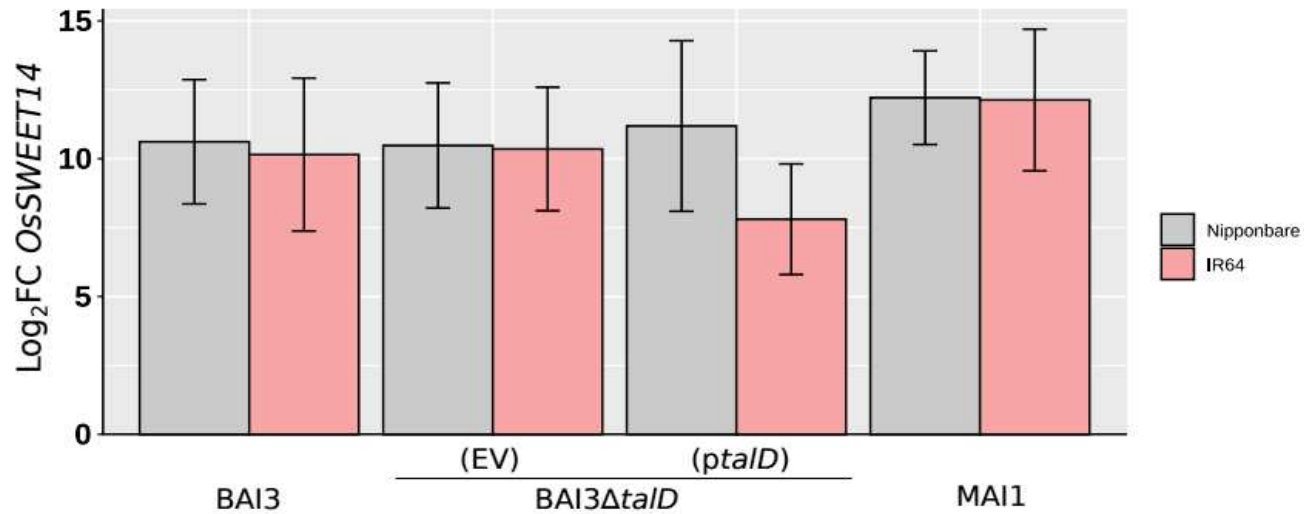


Figure S2. Induction of the susceptibility (*S*) gene *OsSWEET14* in the RNA samples.

Transcript abundance of the virulence target genes *OsSWEET14* was determined by quantitative RT-PCR 24 hours after leaf-infiltration of 3-week-old Nipponbare and IR64 rice varieties with wild-type *Xoo* strains MAI1 and BAI3 the BAI3Δ*talD* mutant complemented with either an empty vector (EV) or *talD* (*ptaID*), and with water as mock control. The fold change was calculated in comparison to leaves treated with water. Actin was used as a reference gene to normalize cDNA amounts. Error bars represent the standard deviation of the mean (SD). Statistical analyses were performed under R software and no significant differences were shown.

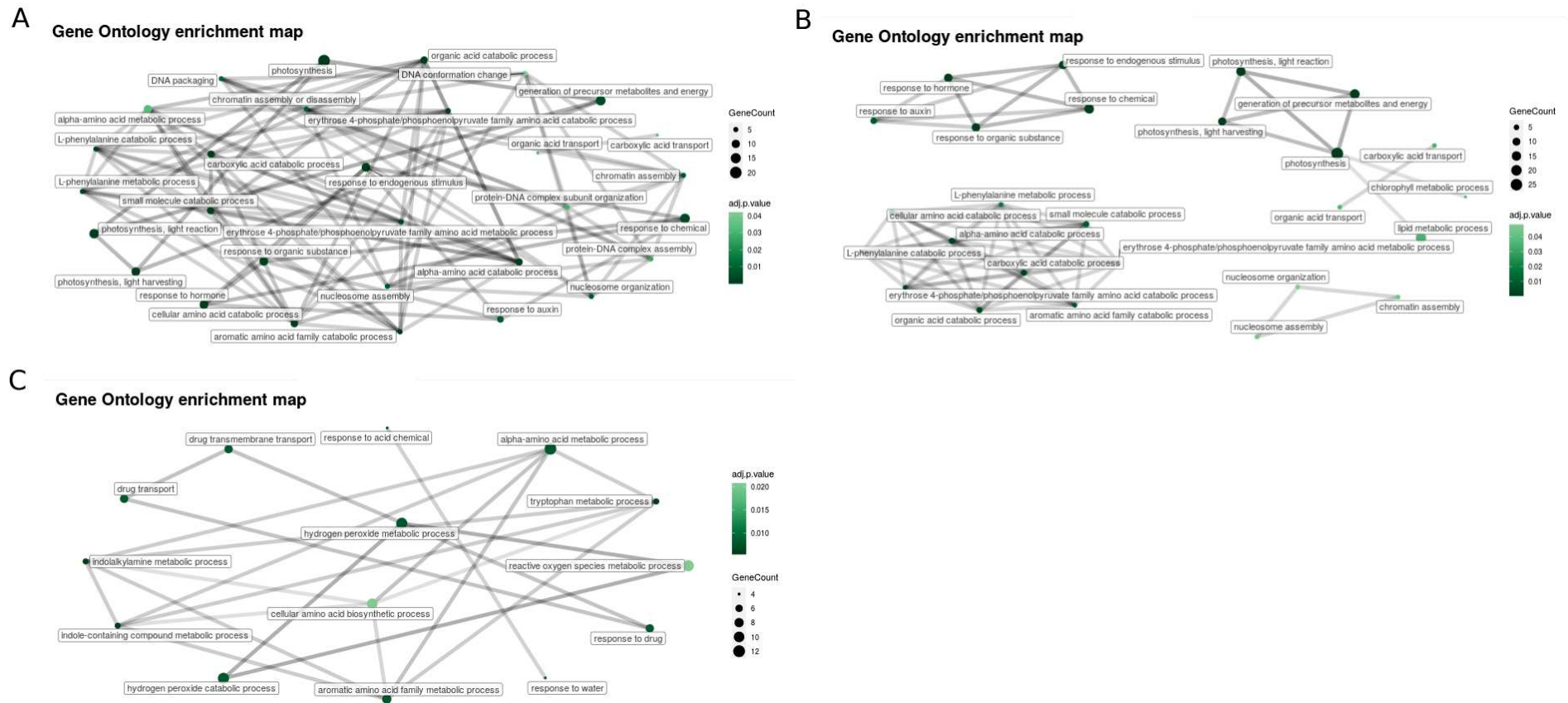


Figure S3. Up- and down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in Nipponbare.

Gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock control, in Nipponbare, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with an adjusted p.value ≤ 0.05 (Droc et al. 2019). Gene ontology of down-regulated genes by MAI1 (A), BAI3 (B) and of up-regulated genes by BAI3 (C).

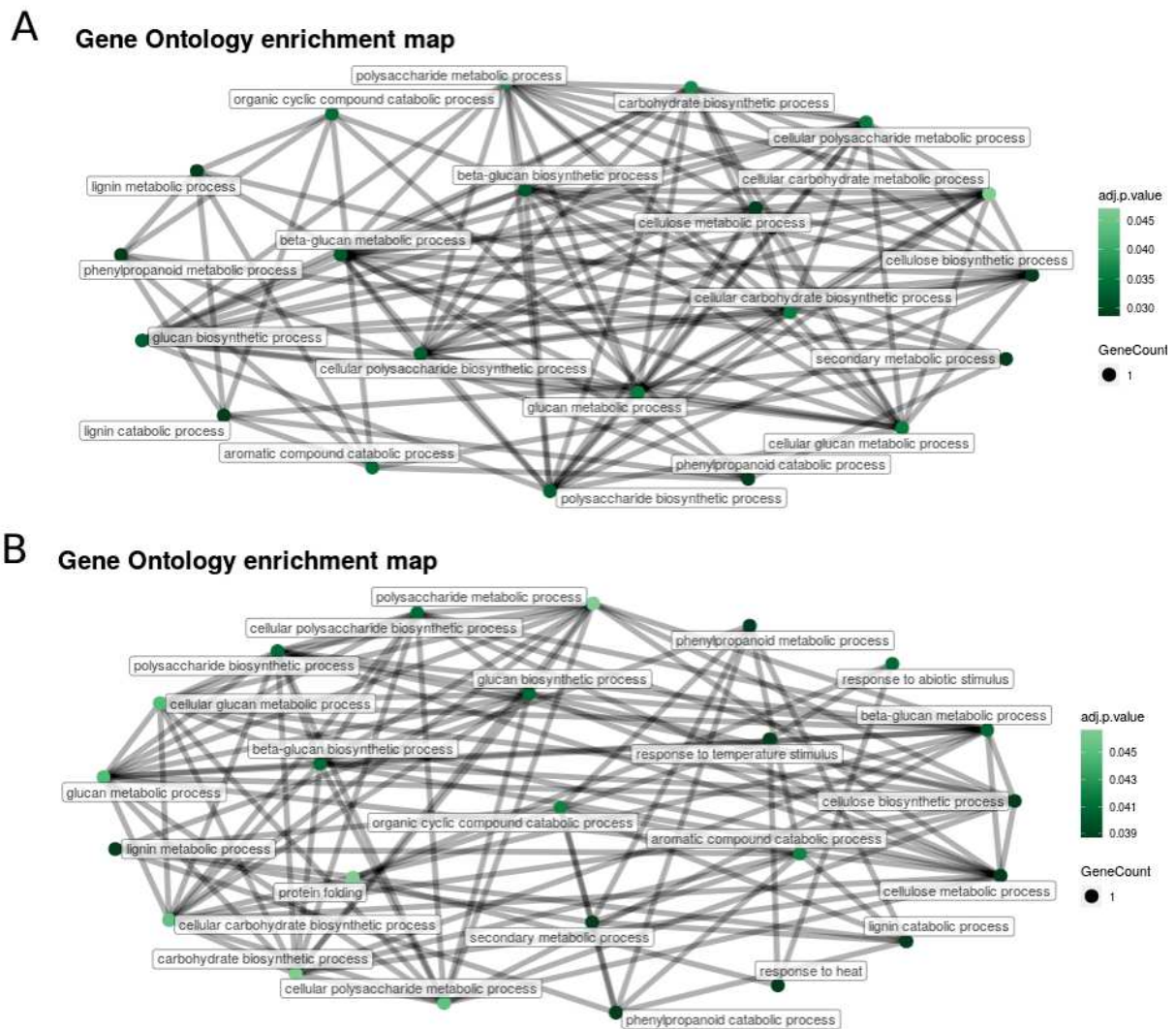


Figure S4. Down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in IR64.

Gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock control, in IR64, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with an adjusted p.value ≤ 0.05 (Droc et al. 2019). LOC_ID from Nipponbare orthologs were used for GO enrichment of IR64 differentially expressed genes. Gene ontology of down-regulated genes by MAI1 (A) and BAI3 (B).

```

OsIR64_03p045980_prot    MEAARVGAQSRHLYGGGLGEPMDRRDKRLLFGWDLNDWRWDSDFVATPVPAAEASGLAL 60
LOC_0s03g61760.1_prot    MEAARVGAQSRHLYGGGLGEPMDRRDKRLLFGWDLNDWRWDSDFVATPVPAAEASGLAL 60
*****

OsIR64_03p045980_prot    NSSPSSSEEAGAASVRNVNARGSDKRKRKRVVVIDDDVEDDELVENGGGSLSLRIGGDAV 120
LOC_0s03g61760.1_prot    NSSPSSSEEAGAASVRNVNARGSDKRKRKRVVVIDDDVEDDELVENGGGSLSLRIGGDAV 120
*****

OsIR64_03p045980_prot    AHGAGVGGGADEEDRNGKKIRVQGGSPSPGACQVEGCTADLTGVRDYHRRHKVCEMHAKA 180
LOC_0s03g61760.1_prot    AHGAGVGGGADEEDRNGKKIRVQGGSPSPGACQVEGCTADLTGVRDYHRRHKVCEMHAKA 180
*****

OsIR64_03p045980_prot    TTAVVGNTVQRFQCQCSRKSYIVKRRDYYGSNDFGSYLLILKNNFRFHPLQEFDEGKRSC 240
LOC_0s03g61760.1_prot    TTAVVGNTVQRFQCQCS-----RFHPLQEFDEGKRSC 212
*****

OsIR64_03p045980_prot    RRRLAGHNRRRRKTRPEVAVGGSFTEDKISSYLLGLLGVCANLNADNAEHLRGQELIS 300
LOC_0s03g61760.1_prot    RRRLAGHNRRRRKTRPEVAVGGSFTEDKISSYLLGLLGVCANLNADNAEHLRGQELIS 272
*****

OsIR64_03p045980_prot    GLLRNLGAVAKSLDPKELCKLLEACQSMQDGSNAGTSETANALVNTAVAEAGPSNSKMP 360
LOC_0s03g61760.1_prot    GLLRNLGAVAKSLDPKELCKLLEACQSMQDGSNAGTSETANALVNTAVAEAGPSNSKMP 332
*****

OsIR64_03p045980_prot    FVNGDQCGLASSVVPVQSKSPTVATPDPPACKFKDFDLNDTYGGMEGFEDGYEGSPTPA 420
LOC_0s03g61760.1_prot    FVNGDQCGLASSVVPVQSKSPTVATPDPPACKFKDFDLNDTYGGMEGFEDGYEGSPTPA 392
*****

OsIR64_03p045980_prot    FKTTDSPNCPSWMHQDSTQSPQTSGNSDSTSAQSLSSNGDAQWICTSNMLKCCRTDKI 480
LOC_0s03g61760.1_prot    FKTTDSPNCPSWMHQDSTQSPQTSGNSDSTSAQSLSSNGDAQ-----CRTDKI 442
*****

OsIR64_03p045980_prot    VFKLFEKVPSDLPPVLRSQLGLWSSSPTDIESYIRPGCIILTVYLRLVESAWKELSDNM 540
LOC_0s03g61760.1_prot    VFKLFEKVPSDLPPVLRSQLGLWSSSPTDIESYIRPGCIILTVYLRLVESAWKELSDNM 502
*****

OsIR64_03p045980_prot    SSYLDKLLNSSTGNFWASGLVFMVRHQIAFMHNGQLMLDRPLANSAHHYCKILCVRPIA 600
LOC_0s03g61760.1_prot    SSYLDKLLNSSTGNFWASGLVFMVRHQIAFMHNGQLMLDRPLANSAHHYCKILCVRPIA 562
*****

OsIR64_03p045980_prot    APFSTKVNFRVEGLNLVSDSSRLICSFEGSCIFQEDTDNIVDDVEHDDIEYLNFCCLPLS 660
LOC_0s03g61760.1_prot    APFSTKVNFRVEGLNLVSDSSRLICSFEGSCIFQEDTDNIVDDVEHDDIEYLNFCCLPLS 622
*****

```

Figure S5. Clustal Omega protein alignment of OsSPL6 protein.

Amino-acid alignment of OsSPL6 protein between the genome sequences of IR64 and Nipponbare varieties was realized under Clustal Omega platform (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Dashe significates a missing amino-acid, "*" indicates it is the same amino-acid.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>			
MAI1	Malian strain race A3	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3	Burkinabe strain race A1	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3 Δ <i>talD</i> (EV)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	Lachaux et al., in prep
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i>)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	Lachaux et al., in prep
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i> Δ Δ AD)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> Δ Δ AD gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	This study
Plasmids			
pSKX1	Empty vector used for <i>tale</i> gene expression, in BAI3	Gentamicin	Streubel et al., 2013
<i>ptalD</i>	pSKX1 plasmid carrying <i>talD</i> used for the complementation of the BAI3 Δ <i>talD</i> mutant	Gentamicin	Lachaux et al., in prep
<i>ptalD</i> Δ Δ AD	pSKX1 plasmid carrying <i>talD</i> Δ Δ AD used for the transformation of the BAI3 Δ <i>talD</i> mutant	Gentamicin	Lachaux et al., in prep

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

Discussion générale

I. Le rôle central des effecteurs de type TAL dans le genre *Xanthomonas*

Les TALE étant des facteurs de virulence majeurs au sein de nombreuses espèces du genre *Xanthomonas*, les plantes hôtes ont développé au cours du temps différents subterfuges pour utiliser ces derniers contre le pathogène lui-même. Qualifiés alors de facteurs d'avirulence, les TALE se retrouvent à induire l'expression de gènes dits exécuteurs, promouvant des réactions de résistance de la plante (Zhang et al. 2015). Avant les études menées au cours de cette thèse, aucun gène d'avirulence n'avait encore été identifié chez des souches Africaines de *Xoo*, c'est pourquoi l'identification chez une souche Africaine de *Xoo*, durant ces travaux, de quatre gènes *tal* candidats ayant une activité d'avirulence, et la confirmation pour deux d'entre eux, a permis une grande avancée dans la caractérisation des effecteurs TAL Africains. Nous avons par ailleurs démontré que les domaines d'activation de la transcription de TalI et TalD étaient nécessaires à la réaction de résistance, suggérant donc l'induction de gènes exécuter. A ce jour, tous les gènes d'avirulence connus chez *Xoo* codent pour des effecteurs TAL (Tableau 5), à l'exception de *raxX* qui code pour un petit peptide sulfaté qui se lie directement avec une grande affinité au récepteur kinase (RLK-LRR) XA21 (Pruitt et al. 2015; Luu et al. 2019). Ainsi, les résultats obtenus au cours de cette thèse mettent en avant, une fois de plus, l'importance des TALE dans l'interaction avec leur hôte, et confirment qu'aborder la recherche de résistance à *Xanthomonas* en utilisant les TALE comme sonde est une approche fiable.

En 2000, Yang et ses collaborateurs démontrent que la région centrale des TALE permet à ces derniers de se lier à l'ADN et détermine les gènes ciblés (Yang et al. 2000). Quelques années plus tard, la découverte du code régissant la fixation des TALE à l'ADN s'en suit (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) et promeut la création de multiples logiciels de prédiction d'EBE, tels que TALE-NT et Talvez (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013) parmi tant d'autres, favorisant par la suite l'identification de plusieurs gènes cibles. Le mécanisme de fixation des TALE étant de plus en plus étudié, on découvre que ces derniers sont capables d'induire des gènes en ciblant des EBE situées aussi sur le brin opposé (Wang et al. 2017). En 2019, un nouveau logiciel, nommé PrediTALe, prend en compte la dépendance putative entre les RVD adjacents et celle entre le premier RVD et la position zéro de la boîte cible (EBE), pour améliorer les prédictions de gènes ciblés (Erkes et al. 2019). Récemment, Erkes et ses collaborateurs étendent les capacités de cet outil afin qu'il prenne en compte l'accessibilité de la chromatine et l'état de méthylation de l'ADN pour la prédiction des boîtes cibles (Erkes et al. 2021).

Gène <i>avr</i>	Protéine <i>Avr</i>	Gène <i>R</i>	Caractéristique	Protéine <i>R</i>	Hôte	Pathogène	Référence
<i>pthXo1 / tal4 / tal9d</i>	Effecteur TAL	<i>Xa1</i> et ses allèles (<i>Xo1</i> , <i>Xa2</i> , <i>Xa14</i> , <i>Xa31</i> , <i>Xa45</i>)	NB-LRR reconnaît les TALE indépendamment de leur séquence en RVD	Protéine NB-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Yoshimura et al. 1998; Triplett et al. 2016; Zhang et al. 2020; Ji et al. 2020)
<i>avrxa5 / pthXo7</i>	Effecteur TAL	<i>xa5</i>	Allèle de perte de S	Facteur de transcription TFIIA γ	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Jian.get et al. 2006; Sugio et al. 2007; Zou et al. 2010)
<i>pthXo1</i>	Effecteur TAL	<i>xa13</i> (<i>OsSWEET11</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Chu et al. 2006; Yang et al. 2006)
<i>pthXo2</i>	Effecteur TAL	<i>xa25</i> (<i>OsSWEET13</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Liu et al. 2011; Zhou et al. 2015)
<i>avrXa7 / pthXo3 / talC / talF_{MAII}</i>	Effecteur TAL	<i>xa41</i> (<i>OsSWEET14</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Antony et al. 2010; Yu et al. 2011; Streubel et al. 2013; Hutin et al. 2015)
<i>avrXa7 / pthXo3</i>	Effecteur TAL	<i>Xa7</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire, putative	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Chen et al. 2021; Luo et al. 2021)
<i>avrXa10</i>	Effecteur TAL	<i>Xa10</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire localisée au niveau du RE	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Tian et al. 2014)
<i>avrXa23</i>	Effecteur TAL	<i>Xa23</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire, putative	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Wang et al. 2015a)
<i>avrXa27</i>	Effecteur TAL	<i>Xa27</i>	Gène exécuteur	Protéine sécrétée dans l'apoplaste	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Zhang et al. 2015)
<i>TalI</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Lachaux et al. in prep)
<i>TalD</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Lachaux et al. in prep)
<i>avrXa3</i>	Effecteur TAL	<i>Xa3/Xa26</i>		récepteur RLK-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Li et al. 2004; Sun et al. 2004; Xiang et al. 2006)
<i>RaxX</i>	Peptide sulfaté	<i>Xa21</i>		récepteur RLK-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Pruitt et al. 2015)
Inconnu	Indéterminée	<i>Xa4</i>		Kinase associée à la paroi cellulaire / famille de récepteur RLK	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Hu et al. 2017)
<i>avrBs4C</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4C-R</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire localisée au niveau du RE	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Strauss et al. 2012)
<i>avrBs1</i>	Protéine de 50 kDa	<i>Bs1</i>	Résistance aux races 0, 2 et 5	Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Cook and Guevara 1984; Ronald and Staskawicz 1988) (Escolar et al. 2001)
<i>avrBs2</i>	Protéine avec un domaine glycérolphosphodiesterase (GDE) conservé	<i>Bs2</i>	Résistance aux races 0 à 3, 7 et 8	Protéine NB-LRR	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Minsavage 1990; Tai et al. 1999)
<i>avrBs3</i>	Effecteur TAL	<i>Bs3</i>	Gène exécuteur / Résistance aux races 0, 1, 4, 7 et 9	Protéine de la famille des " flavin-dépendant mono-oxygenase", sous-classe YUCCA, putative	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Bonas et al. 1989; Römer et al. 2007)
<i>avrHah1</i>	Effecteur TAL	<i>Bs3</i>	Gène exécuteur	Protéine de la famille	Poivron	<i>X. gardneri</i>	(Römer et al. 2007;

				des " flavin-dependant mono-oxygenase", sous-classe YUCCA, putative			Schornack et al. 2008)
Inconnu	Indéterminée	<i>bs5 / bs6</i>	Résistances récessives, combinées donne résistance complète aux races 0 à 10	Non déterminées	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Vallejos et al. 2010)
<i>avrBsT (xopJ2)</i>	Protéine de 39 kDa	<i>BsT</i>		Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Escolar et al. 2001)
<i>avrBs7</i>	Effecteur <u>Xop</u>	<i>Bs7</i>		Protéine avec un domaine tyrosine-phosphatase	Poivron	<i>X. gardneri</i>	(Potnis et al. 2012)
<i>avrBs1,1</i> (homologue <i>avrBs7</i>)	Effecteur Xop	Possiblement <i>Bs7</i>		Protéine avec un domaine tyrosine-phosphatase	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Potnis et al. 2012)
<i>avrRxv (xopJ4)</i>	Effecteur de la famille XopJ	Inconnu		Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Osdaghi et al. 2021)
<i>avrXv4 (XopJ4)</i>	Effecteur de la famille XopJ	Inconnu		Non déterminée	Tomate	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>perforans</i>	(Osdaghi et al. 2021)
<i>avrBs4</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Bonas et al. 1993; Schornack et al. 2004)
<i>hax3</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. campestris</i> pv. <i>armoraciae</i>	(Schornack et al. 2004; Kay et al. 2005)
<i>hax4</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. campestris</i> pv. <i>armoraciae</i>	(Schornack et al. 2004; Kay et al. 2005)
<i>pthA4^{AT}</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Agrumes	<i>X. citri</i> pv. <i>citri</i>	(Roeschlin et al. 2019)
<i>avrGf1/avrGf2</i>	Effecteur de la famille XopAG	Inconnu		Non déterminée	Agrumes	<i>X. citri</i> pv. <i>citri</i>	(Ri et al. 2018)
<i>avrXg1</i>	Effecteur TAL	Inconnu	Donne résistance à la race 3	Non déterminée	Soja	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>	(Athinuwat et al. 2009)

Tableau 5. Gènes d'avirulence et gènes de résistance au sein du genre *Xanthomonas* chez différents pathosystèmes.

Les TALE sont des effecteurs polyvalents développés par l'agent pathogène afin de cibler différentes séquences promotrices du génome de la plante hôte et induire une diversité de gènes cibles. Ces dernières années le domaine central de liaison à l'ADN des TALE a largement été étudié, mais la façon dont la machinerie de transcription de l'hôte est recrutée et si d'autres éléments sont nécessaires à ce mécanisme est une question qui subsiste. Les effecteurs TAL nous réservent encore bien des surprises, telles que de nouvelles cibles de résistance ou de sensibilité, de nouveaux dispositifs d'action pour lutter contre les réponses de défense de la plante (e.g. iTALE/truncTALE). Ainsi, afin de mieux comprendre ces mécanismes et pouvoir davantage contrôler la résistance, approfondir les études sur les TALE est nécessaire, et nous savons qu'un long chemin reste à parcourir.

II. Quelle est la meilleure approche pour identifier des gènes de résistance à *Xanthomonas* ?

A ce jour, il existe plusieurs catégories de gènes de résistance connus pour être induits par *Xanthomonas*. Par exemple, parmi les 12 gènes de résistance à *Xoo* qui ont été clonés, 9 induisent des résistances TALE-dépendantes. Ces dernières se regroupent en trois catégories: i) les résistances récessives provenant d'une perte de sensibilité, dues au polymorphisme de l'EBE au sein du promoteur d'un gène *S*, rendant ce dernier non-inductible par le TALE correspondant, ii) les résistances qui dépendent de l'induction d'un gène *R* par un TALE (gène *E*), et sans oublier iii) les résistances liées à l'activité de gènes *R* de la famille des NB-LRR.

En sachant que l'expression des gènes ciblés par les TALE est modifiée lors de l'interaction plante-pathogène (Strauß et al. 2012), et grâce à la découverte du code TALE-ADN (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009), de nombreuses approches de transcriptomique combinées à de la prédiction de cibles *in silico* ont pu être entreprises afin d'identifier de nouveaux gènes ciblés par les TALE dans différentes plantes hôtes. En 2012, une étude pionnière combinant une approche de RNAseq à des analyses de prédictions d'EBE a conduit à l'isolement chez la tomate du gène de résistance *Bs4C* ; le premier gène exécuteur identifié par approche de transcriptomique, induit par le TALE AvrBs4 de *X. euvesicatoria* (Strauß et al. 2012). L'analyse de transcriptome est une approche qui permet de détecter les gènes différentiellement exprimés et par conséquent les gènes potentiellement ciblés par les TALE. Cette approche permet aussi d'observer le changement d'expression d'un ensemble de gènes dérivant de cette cascade d'induction TALE-dépendante. Toutefois, l'approche RNAseq a ses limites, et bien que les gènes *E Bs4C* et *Xa7* (Strauß et al. 2012; Luo et al. 2021) aient été identifiés par cette voie, à ce jour, le profil d'expression des gènes *E* est encore peu étudié et peu compris; et si le profil d'expression, en intensité et au cours du temps, des gènes *E* est similaire, ou non, à celui des gènes *S*, qui sont fortement dérégulés, reste encore à être

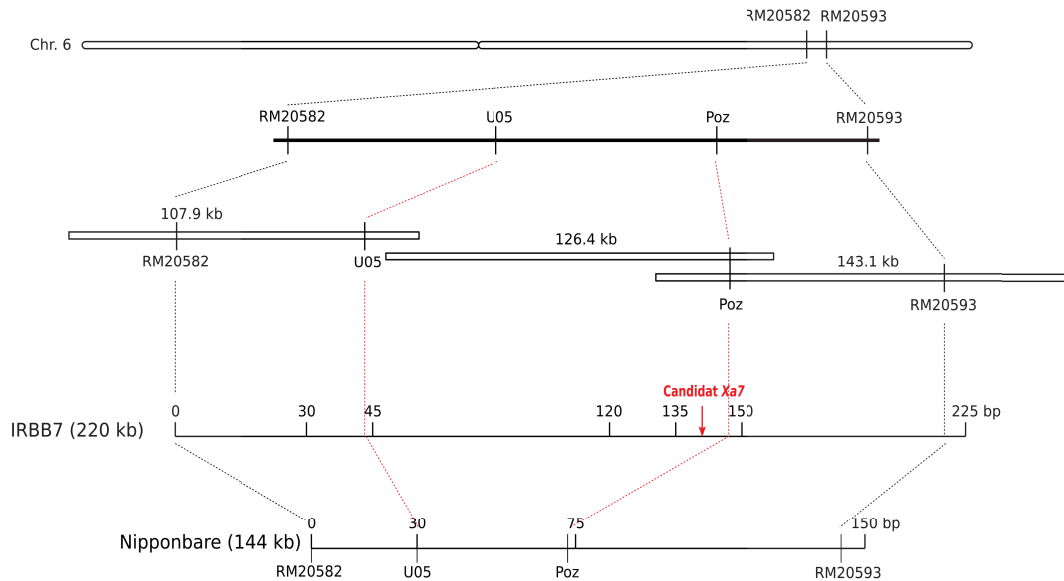


Figure 22. Cartographie fine du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Wang et al. 2021).

Les lignes verticales représentent les sites des principaux marqueurs de la carte physique. Les contigs BAC IRBB7 sont représentés par des rectangles non remplis qui se chevauchent. La région entre les lignes pointillées rouges représente la région *Xa7* cartographiée, qui est flanquée par les marqueurs U05 et Poz.

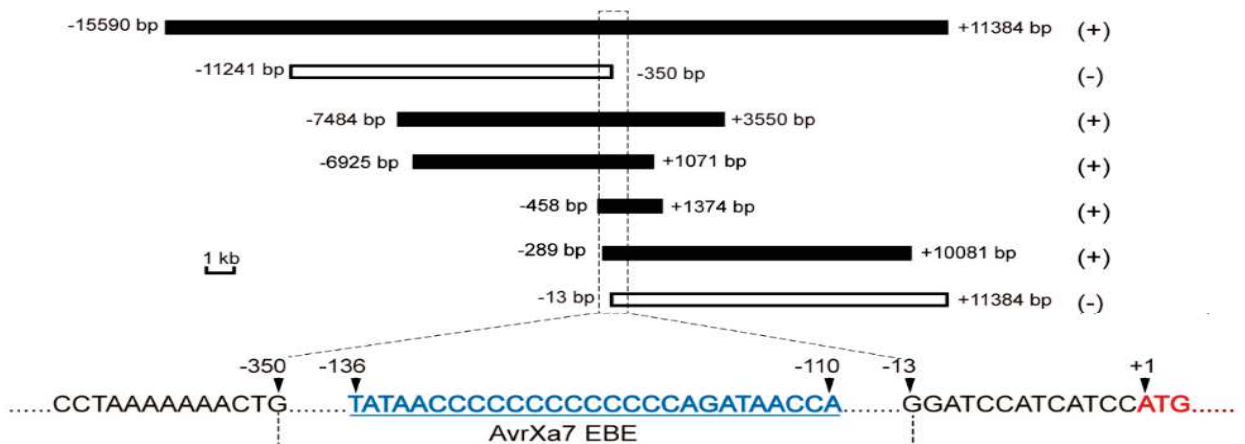


Figure 23. Complémentation fonctionnelle du gène candidat *Xa7*. D'après (Wang et al. 2021).

Les sous-clones TAC utilisés pour la transformation du riz sont indiqués par des rectangles vides et remplis. Les rectangles vides représentent les sous-clones générant des lignées transgéniques sensibles, tandis que les rectangles pleins représentent les sous-clones générant des lignées transgéniques résistantes. Les informations positionnelles des fragments insérés sont indiquées à côté des rectangles. Les chiffres négatifs indiquent une distance en amont du site d'initiation du codon ATG pour le gène candidat, tandis que les chiffres positifs indiquent une distance en aval de celui-ci. Les sous-clones qui ont produit un riz transgénique résistant à la BLB sont marqués par (+), sinon par (-).

démonstré. Il est possible que l'expression, même faible, d'un gène toxique pour la plante soit suffisante pour empêcher la bactérie de se multiplier. En outre, la combinaison d'un gène *E*, même exprimé faiblement, avec d'autres gènes pourrait permettre d'établir une résistance au sein de la plante hôte. La résistance quantitative se traduit par l'effet cumulé de plusieurs gènes (St.Clair 2010), ce qui pourrait d'un point de vue transcriptomique se manifester par un ensemble de gènes faiblement dérégulés. Par ailleurs, certains types de résistances comme celles reposant sur le gène *Bs4*, codant pour un NB-LRR constitutivement induit chez la tomate, ainsi que les gènes non-exécuteurs *Xa4*, *Xa21* et *Xa3/Xa26*, codant pour des protéines de la famille des RLK chez le riz, ne peuvent donc pas être mises en évidence par des approches de type RNAseq. Ces gènes de résistance n'appartenant pas à la famille des gènes *E* ont d'ailleurs été identifiés par une approche de cartographie génétique (Song et al. 1995; Yoshimura et al. 1998; Ballvora et al. 2001; Sun et al. 2003, 2004). Ce genre d'approche est utilisé depuis de nombreuses années pour caractériser, entre autres, des sources de résistance à divers pathogènes. Par exemple, des populations de double-haploïdes dérivant du croisement F₁ entre IR64 et Azucena ont permis la mise en évidence de plusieurs QTL conférant la résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV pour "Rice Yellow Mottle Virus"), ainsi qu'à la pyriculariose, dont l'agent pathogène est *M. oryzae* (Albar et al. 1998; Sallaud et al. 2003). De plus, une population de lignées dite MAGIC (pour "Multi-parent Advanced Generation Inter-Cross") provenant du croisement de huit variétés de riz *indica*, a permis d'identifier 18 QTL de résistance à *Xoo* (Huerta et al. 2021). Dans le contexte de cette thèse nous avons décidé de nous appuyer sur des analyses de cartographie génétique reposant sur le criblage d'une population de lignées recombinantes (RIL pour "Recombinant Inbred Lines") de génération F₁₁, provenant du croisement entre les variétés IR64 et Azucena. Ce criblage avait pour but de caractériser la résistance induite chez IR64 par MAI1 et BAI3. L'un des avantages de la cartographie est que cette approche sans a priori permet de mettre en lumière diverses sources de résistance qui, nous concernant, pourraient être TALE et non-TALE dépendantes.

Récemment, le gène exécuteur *Xa7*, provoquant la résistance du riz aux souches de *Xoo* porteuses des TALE AvrXa7 et PthXo3, a été cloné par plusieurs équipes simultanément (Chen et al. 2021; Luo et al. 2021; Wang et al. 2021). L'identification de *Xa7*, sur le chromosome 6, par ces équipes a commencé par une approche de cartographie il y a plus de 10 ans de cela (Porter et al. 2003; Chen et al. 2008; Zhang et al. 2009). Wang et ses collaborateurs ont par la suite utilisé une banque de clones BAC, couvrant l'intervalle révélé par les études de cartographie fine, ce qui leur a permis de mettre en lumière l'insertion d'une séquence d'environ 100 kb entre le génome de référence Nipponbare et la lignée quasi-isogénique IRBB7, comportant la région où se situe *Xa7* (Figure 22). Au sein de ces 100 kb, 35 ORF ("open reading frames") étaient prédites. En utilisant le logiciel de

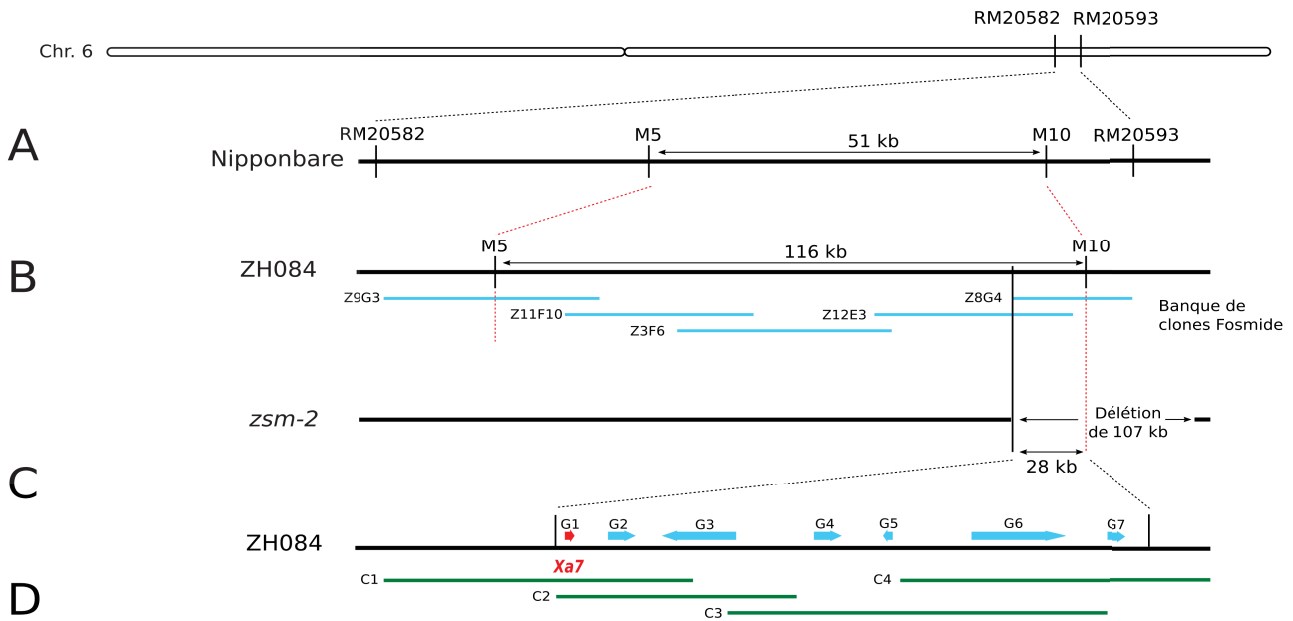


Figure 24. Clonage positionnel du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Chen et al. 2021).

(A) Carte physique de la région contenant *Xa7* sur le chromosome 6 du riz basée sur le génome de référence de Nipponbare. (B) Carte physique de la région contenant *Xa7* basée sur la variété de riz Zhen-hui 084 (ZH084). La carte a été construite en utilisant des contigues de clones isolés à partir de la bibliothèque génomique de la variété correspondante. (C) La région de chevauchement de 28 kb entre la région de cartographie de *Xa7* de 116 kb et la délétion de 107 kb dans un mutant sensible à la BLB, *zsm-2*, dont le fond génétique est celui de la variété ZH084. Les gènes prédits (G1 à G7) dans la région de chevauchement de 28 kb. (D) Les positions des quatre fragments (C1 à C4) utilisés pour la transformation de complémentation fonctionnelle dans Zhonghua 11 (ZH11), variété sensible à la BLB.

prédiction d'EBE TALgetter (Grau et al. 2013), deux boîtes cibles pour le gène d'avirulence *avrXa7* ont été prédites, dont l'une se trouvait à 110 pb du codon d'initiation d'un gène candidat (Figure 22). Wang et ses collaborateurs ont décidé par la suite de valider ce candidat par une approche de gain-de-fonction consistant à transformer une variété de riz sensible à *Xoo* avec des clones comportant chacun une séquence, alliant le promoteur et/ou le gène candidat, de taille variable (Figure 23; Wang et al. 2021). D'un autre côté, la stratégie utilisée par Chen et ses collaborateurs, après avoir réduit l'intervalle de cartographie à 51 kb chez Nipponbare (Figure 24.A), a été de construire une banque de fosmides; chaque construction pouvant contenir jusqu'à 40 kb du génome de la variété résistante, Zhen-hui 084, portant *Xa7*. Après criblage par PCR de chaque fosmid, cinq clones ont été sélectionnés pour couvrir la totalité de la région *Xa7* (Figure 24.B). Contrairement à l'intervalle de 51 kb révélé chez Nipponbare, la région comportant *Xa7* chez Zhen-hui 084 était de 116 kb, et identique à cette même région chez IRBB7. Par la suite, une banque de mutants composée de plus de 20 000 lignées Zhen-hui 084 a été criblée, et parmi ces dernières une seule possédant une délétion de 107 kb dans la région *Xa7* s'est révélée être sensible aux souches de *Xoo* portant l'effecteur *AvrXa7* (Figure 24.C). En croisant les séquences des 116 kb révélés par les analyses de cartographie fine avec les 107 kb de délétion dans la lignée mutante (*zsm-2*), 28 kb se superposaient et révélèrent 7 gènes candidats (Figure 24.C). Chen et ses collaborateurs entreprirent alors la complémentation fonctionnelle d'une variété sensible à *Xoo* avec chacun de ces gènes candidats, ce qui les mena à l'identification de *Xa7* (Figure 24.D; Chen et al. 2021). Dans le cas de Luo et ses collaborateurs, les analyses de cartographie réduisant l'intervalle à 41 kb et 74 kb, respectivement chez Nipponbare et IRBB7, ont été suivies d'une approche de séquençage d'ARN nommée RAMPAGE (pour "RNA Annotation and Mapping of Promoters for the Analysis of Gene Expression") qui combine l'annotation des ARNm avec la cartographie de leur promoteur respectif (Figure 25.A; (Batut and Gingeras 2013; Raborn and Brendel 2019)). Par la suite, la création de mutations via la technologie CRISPR-Cas9 dans le gène candidat, mis en avant par la précédente analyse dans la variété NB7, qui provient du croisement entre Nipponbare et IRBB7, a permis de valider l'implication de ce dernier dans la résistance à *Xoo* (Figure 25.B). Pour terminer, Luo et ses collaborateurs ont mis en évidence, via les logiciels de prédiction d'EBE, Talvez et TALE-NT (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), une boîte cible pour chacun des TALE de *Xoo* *AvrXa7* et *PthXo3*, connus pour induire la résistance dans les variétés porteuses de *Xa7* (Hopkins et al. 1992; Luo et al. 2021).

En résumé, il s'avère qu'une combinaison des différentes approches énoncées ci-dessus semble être la solution idéale afin de parvenir à l'identification de gènes de résistance. C'est pourquoi, de notre côté nous avons tenté d'utiliser une stratégie similaire à Luo et ses collaborateurs, en combinant les analyses de cartographie, avec celles de transcriptomique ainsi qu'avec des prédictions d'EBE pour

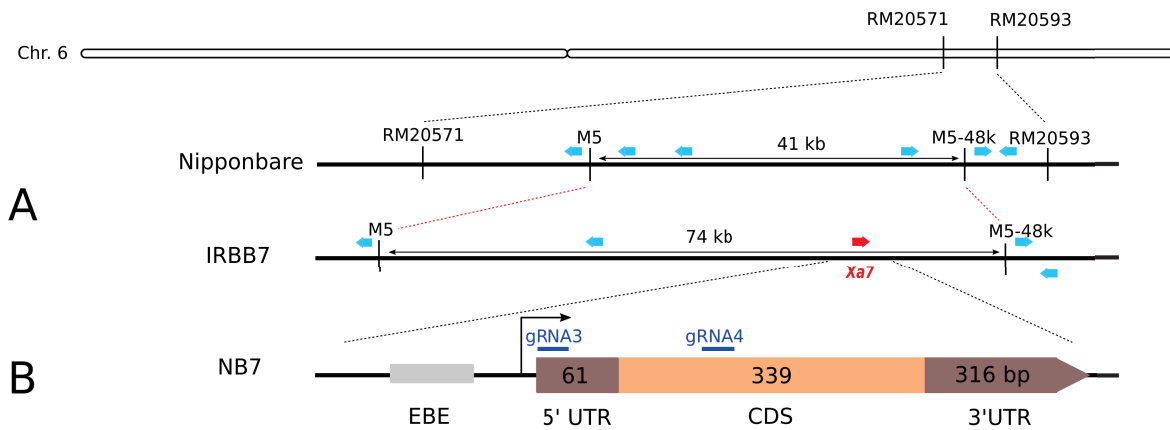


Figure 25. Cartographie fine et identification du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Luo et al. 2021). (A) Carte physique du locus *Xa7* et des marqueurs associés sur le chromosome 6. Régions génomiques délimitées par deux marqueurs (M5 et M5-48k) dans Nipponbare et IRBB7. Les gènes annotés dans Nipponbare et IRBB7 sont indiqués par des flèches bleues, et par une flèche rouge pour le gène candidat *Xa7*. (B) Représentation schématique de *Xa7*. La structure du gène est représentée par une boîte cible (EBE) pour Avr*Xa7*, un 5' UTR pour la région non traduite 5', 3' UTR pour la région non traduite 3', puis la séquence codante (CDS).

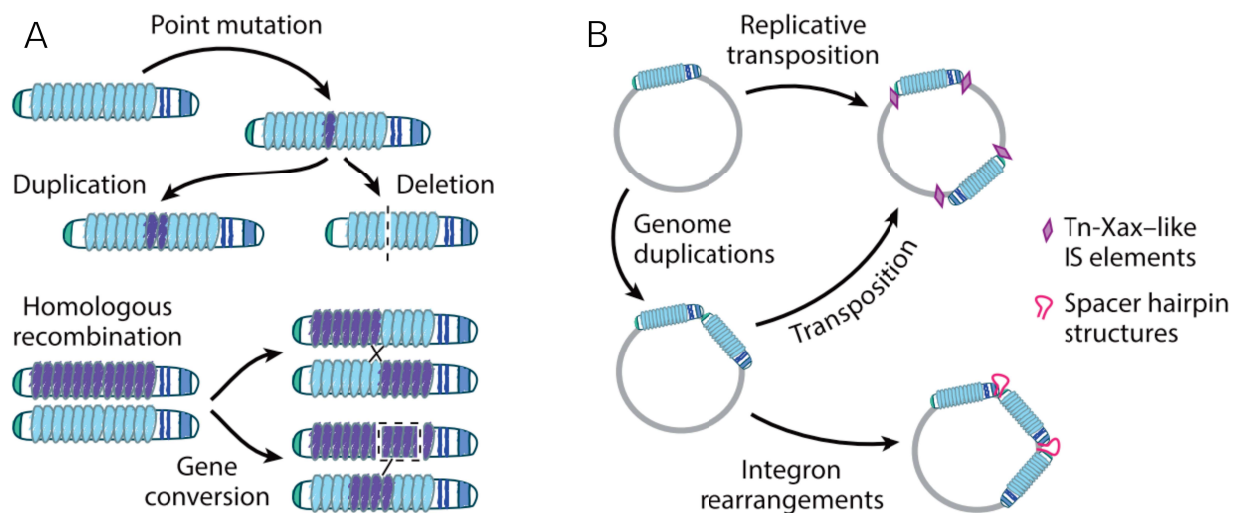


Figure 26. Mécanismes d'évolution des effecteurs TAL. D'après (Perez-Quintero and Szurek 2019) (A) Mécanismes décrits générant une variation de la séquence de répétition dans les TALE. (B) Représentation des mécanismes décrits générant des réarrangements génomiques des TALE. Séquence d'insertion (IS).

TalD, afin d'affiner la liste de gènes candidats. Cependant, ce travail de recherche de gènes candidats reste laborieux, en partie car nous n'avons pas encore assez de recul sur le profil d'expression des gènes impliqués dans une résistance quantitative, type de résistance qui semble être induite par BAI3 chez IR64. Il se peut que le potentiel gène *E* induit par TalD ne soit que faiblement dérégulé, mais que ceci soit suffisant pour que son action cumulée avec celles des autres QTL mis en avant par BAI3 provoquent une diminution des symptômes.

III. La course aux armements: quelles sont les stratégies évolutives mises en place par la plante et la bactérie pour survivre ?

a) Evolution des gènes de résistance chez les plantes : les NB-LRR

Le nombre de NB-LRR au sein des génomes végétaux varie fortement, allant de quelques dizaines chez le kiwi et la papaye (González et al. 2015; Zhang et al. 2016; Baggs et al. 2017), à plusieurs milliers chez le blé (Andersen and Nepal 2019). Dans certains cas, l'adaptation aux pathogènes est un des facteurs qui conduit à la diversification des NB-LRR au sein d'une même espèce, comme cela a été observé chez *A. thaliana* (Van de Weyer et al. 2019) et chez *Solanum pennellii* (la tomate sauvage) (Stam et al. 2016, 2019). Les protéines de résistance peuvent fonctionner directement ou indirectement comme des récepteurs de protéines effectrices sécrétées par les agents pathogènes dans les cellules hôtes (Dangl et al. 2013; Cesari et al. 2014). Pour éviter d'être détectés, les effecteurs évoluent rapidement par perte de gènes et/ou par mutation. Afin de contrer cette évolution les plantes ont développé des processus qui permettent de maintenir la diversité des NB-LRR et de déployer des "pièges à pathogènes" efficaces. Mais comment cette diversification des NB-LRR peut-elle être réalisée dans un court laps de temps évolutif ? Une partie de l'expansion des CNL (ou CC-NB-LRR pour "Coiled-Coil Nucleotide-Binding Leucine-Rich-Repeat") chez les Solanacées et les Poacées a été attribuée à l'activité des rétrotransposons à longue répétition terminale (LTR) (Kim et al. 2017). Par ailleurs, la nature répétitive des protéines NB-LRR elles-mêmes leur permet d'évoluer en utilisant i) leur capacité de recombinaison promouvant ainsi la conversion des gènes (Mondragon-Palomino and Gaut 2005; Serra et al. 2018), et ii) la machinerie de réplication pour les duplications locales (Leister 2004). Cependant, les conversions et la duplication de gènes ne suffisent pas à elles seules pour générer une nouvelle reconnaissance des pathogènes. Les recombinaisons inter- et intra- géniques, ainsi que les mutations ponctuelles (Mago et al. 2015; Lu et al. 2016), jouent un rôle majeur dans la diversification des NB-LRR.

Dans le cadre de cette thèse nous avons identifié plusieurs allèles apparents de *Xa1*, un NB-LRR provoquant de la résistance contre les souches de *Xoo* Africaines. Il s'avère que l'un d'entre eux, *Xo1*, se situe dans une région riche en NB-LRR (Read et al. 2020). Des études sur le gène de

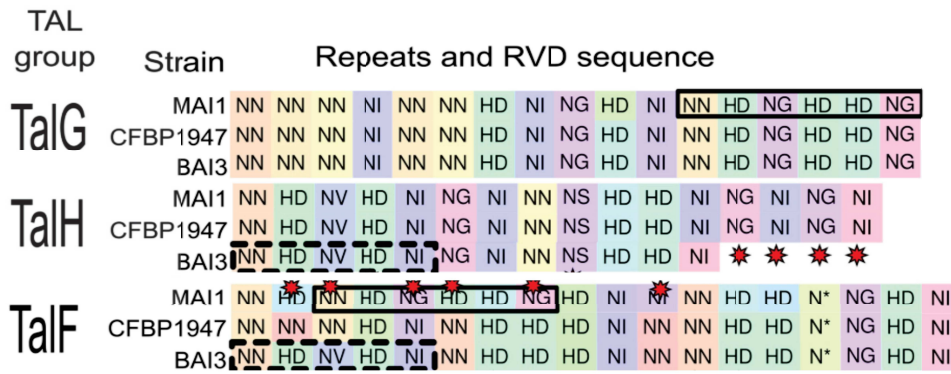


Figure 27. Recombinaison de RVD entre les effecteurs TAL des souches MAI1 et BAI3. D'après (Tran et al. 2018)

Les séquences RVD sont indiquées pour chaque variante d'effecteur TAL de chaque souche. Les couleurs de fond pour les RVD représentent des séquences répétées de nucléotides uniques, et les couleurs similaires indiquent des séquences répétées similaires au niveau des nucléotides, comme déterminé par l'alignement Needleman-Wunsch. Les étoiles rouges indiquent les polymorphismes des RVD au sein d'un locus. Les rectangles à lignes pleines mettent en évidence les répétitions partagées par TalF_{MAI1} et TalG_{MAI1}. Les rectangles en pointillés mettent en évidence les répétitions communes à TalF_{BAI3} et TalH_{BAI3}.

résistance à la rouille des feuilles, *Lr21*, montrent que l'allèle fonctionnel de ce dernier est une chimère de deux haplotypes *lr21* non fonctionnels (H1, H2) (Huang et al. 2009). Le gène de résistance fonctionnel *Lr21* peut être reconstitué expérimentalement par recombinaison intramoléculaire des haplotypes non-fonctionnels H1 et H2, ce qui indique que de nouveaux gènes de résistance fonctionnels pourraient avoir évolué, à l'origine chez les espèces sauvages, par recombinaison d'haplotypes non fonctionnels existants (Krattinger and Keller 2016). Sachant cela, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'un mécanisme similaire a pu se produire pour la création de *Xa1* et de ses allèles apparents, expliquant le nombre varié de répétitions de chacun des allèles. Cette hypothèse fait sens si l'on tient compte que l'un de ces allèles, *Xo1*, a été identifié dans une zone du génome riche en gènes codant pour des NB-LRR, ce qui pourrait favoriser les recombinaisons intergéniques (Read et al. 2020).

b) Evolution des gènes *tal* chez *Xanthomonas*

L'une des principales forces motrices de l'évolution des TALE est la modification des promoteurs de la plante hôte visant à éviter l'activation des gènes de sensibilité situés sous leur contrôle, ou de permettre l'activation des gènes de résistance de type exécuteur. Ainsi, du côté de la bactérie des modifications au niveau de la séquence en RVD des TALE sont apportées permettant de rétablir l'activation des gènes de sensibilité ou d'éviter celle des gènes de résistance (Hutin et al. 2015). D'un point de vue mécanistique, les comparaisons de séquences des gènes *tal* ont montré que des évènements de recombinaison, des mutations ponctuelles (affectant les RVD), de la duplication et des insertions/délétions peuvent se produire au niveau des répétitions des gènes *tal* (Figure 26.A; (Erkes et al. 2017; Schandry et al. 2018). Cependant, des évènements de recombinaison peuvent aussi avoir lieu en dehors des répétitions (Denancé et al. 2018). Selon plusieurs études, la délétion/duplication des répétitions proviendrait d'erreurs de réplication en raison du haut degré de conservation des répétitions, ce qui pourrait entraîner la formation de boucles dans la fourche de réplication (Erkes et al. 2017), ou d'un mauvais appariement des brins glissés (Schandry et al. 2018). Les réarrangements génomiques des gènes *tal* seraient aussi dus à des mécanismes de transposition utilisant par exemple des séquences d'insertion (IS), des transposons de type Tn3 ou Tn*Xax1*, ou encore des intégrons (Figure 26.B; (Ferreira et al. 2015; Erkes et al. 2017; Ruh et al. 2017). Un exemple de recombinaisons inter-géniques entre les répétitions de différents *tal* de *Xanthomonas* est retrouvé avec les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, dont le groupe TalF possède certains RVD qui auraient recombinaison avec le groupe TalH et TalG (Figure 27 ; (Tran et al. 2018). Il a été proposé que les protéines contenant des répétitions soient très instables d'un point de vue évolutif car elles sont soumises à des taux de mutation très élevés lors des recombinaisons, ce qui entraîne des changements dans le nombre et l'ordre des répétitions (Mesarich et al. 2015). De

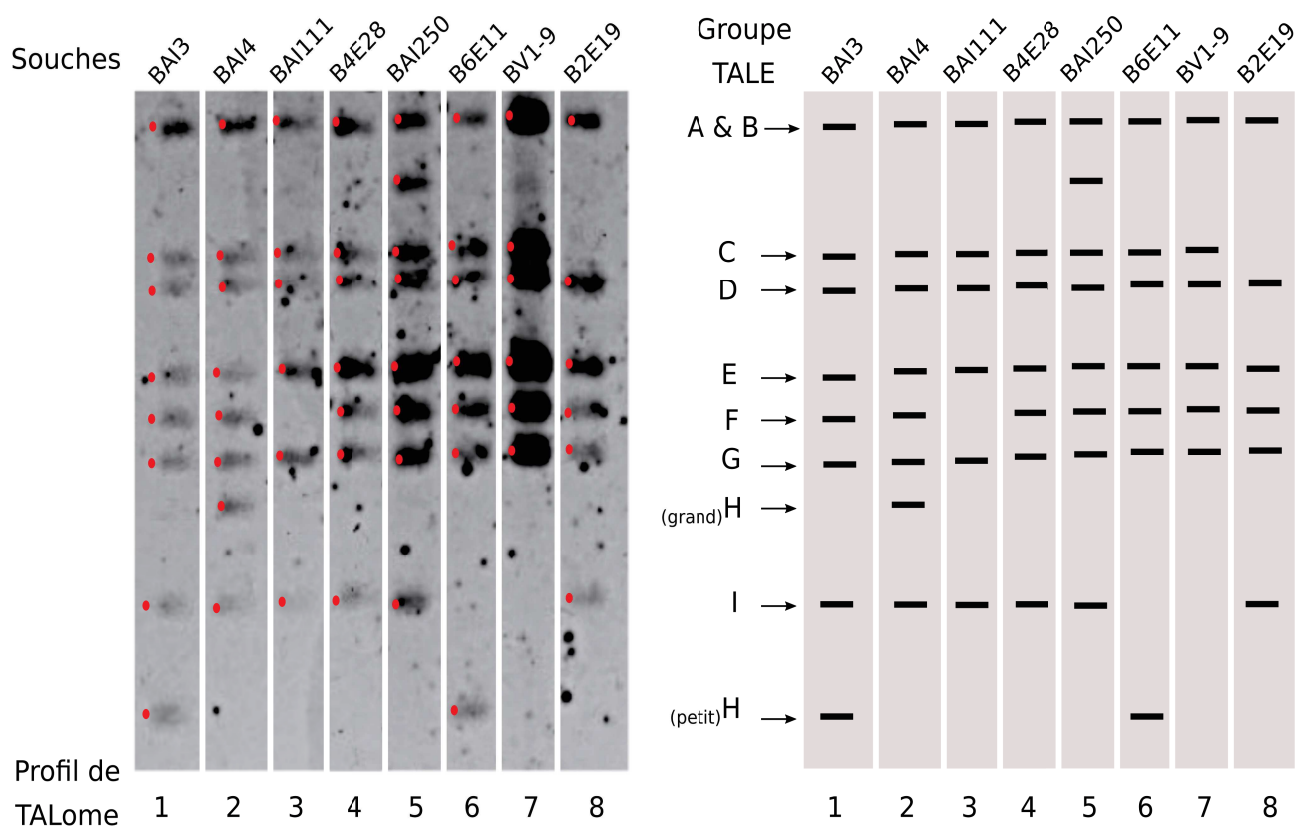


Figure 28. Les différents profils TAL-RFLP identifiés au sein de la collection CIX de l'IRD. D'après (Diallo et al. in prep)

L'ADN des souches a été digéré avec l'enzyme BamHI-HF coupant au niveau de séquences conservées en 3' et 5' de chaque TALE, de part et d'autre de la région centrale des répétitions. La sonde utilisée comporte la séquence codante de la région C-terminale du TalA de BAI3. Cette séquence étant très conservée chez les TALE ; la sonde s'hybride donc théoriquement avec tous les TALE.

plus, il a été rapporté que les espèces de *Xanthomonas* ayant de grands TALomes comme *Xoo* (allant de 8 à 20 TALE) présentent de fréquents réarrangements (Ponciano et al. 2004; Schandry et al. 2018). Il semblerait donc que le fait d'avoir plus de répétitions disponibles conduirait à un processus d'évolution plus rapide.

En 2000, Vera Cruz et ses collaborateurs ont observé aux Philippines le contournement de la résistance médiée par *Xa7* par les souches Asiatiques de *Xoo* de la race 9. Dans cette étude, diverses stratégies de contournement mises en place par les souches de *Xoo*, ont pu être identifiées allant du réarrangement intra-génique, créant du polymorphisme au niveau du locus *avrXa7*, à la présence de mutations à l'extrémité 3' de *avrXa7*. Cependant, la race 9b, bien qu'ayant son agressivité légèrement augmentée sur les variétés de riz portant *Xa7*, comporte toujours un allèle intact de *avrXa7*. Au cours de cette étude, des analyses de Southern blot ont révélé un fragment de 4,2 kb s'hybridant à la sonde *tal*, qui pourrait s'avérer être l'élément ayant permis aux souches de la race 9b de se maintenir au champ année après année (Vera Cruz et al. 2000).

On en revient à cette course aux armements qui confronte le pathogène et son hôte, créant un besoin d'évoluer toujours plus rapidement afin de s'adapter. Suivant cette hypothèse, les populations de pathogènes bénéficieraient alors d'un arsenal d'effecteurs variés afin de contrer les changements génétiques de son hôte. Concernant les TALE, nous pouvons donc supposer que les effecteurs pour lesquels aucun rôle de virulence n'a encore été identifié serviraient de réservoir de recombinaison/mutation pour générer de nouveaux variants virulents lorsque le pathogène rencontre un nouvel hôte résistant (Yang et al. 2005).

IV. Quels sont les mécanismes qui régissent l'évolution des TALomes ?

Comme supposé précédemment avec l'évolution des gènes *tal*, l'évolution des TALomes, de leur diversité de taille et de composition, pourrait être le résultat de programmes de sélection et de déploiement rapide de cultivars résistants aux xanthomonades. Par exemple, le riz est une culture céréalière qui a fait l'objet d'une sélection intensive dans les pays asiatiques et ce depuis une longue période. En revanche, la sélection du riz dans les pays africains nous ramène à une période beaucoup plus récente (Vaughan et al. 2008). Cette différence peut être reliée à la disparité de taille des TALomes entre les souches Asiatiques et Africaines de *Xoo* qui comportent respectivement jusqu'à 19 et jusqu'à 9 TALE (Gonzalez et al. 2007; Salzberg et al. 2008). Concernant la différence de composition de ces derniers, dans lesquelles on ne retrouve aucun TALE similaire, ceci pourrait s'expliquer par les cultivars distincts utilisés en Asie et en Afrique menant les souches Africaines et Asiatiques de *Xoo* à être confrontées à sources de résistance contrastées. Il peut alors être proposé que l'expansion des TALomes est une caractéristique qui a été sélectionnée en réponse à la

résistance des plantes, car elle permet aux bactéries de développer des stratégies de contre-défense et de s'adapter rapidement aux nouveaux cultivars (Schandry et al. 2018).

Si l'expansion des TALomes est le résultat d'une adaptation pour contrer les défenses de la plante hôte, comment expliquer que chez certaines souches Africaines de *Xoo*, des *tal* tendent à disparaître ? (Diallo et al., in prep). Une étude réalisée sur une collection de souches de *Xoo* provenant du Burkina Faso a permis de révéler six nouveaux profils de TALome, en comparaison aux deux profils des souches Africaines de référence MAI1 et BAI3 provenant du Mali et du Burkina Faso, respectivement (Figure 28 ; Diallo et al., in prep). Parmi ces six nouveaux profils, cinq ne possèdent pas de groupe correspondant à TalH. Un des profils ne contient plus de groupe s'apparentant ni à TalF, ni à TalH, et un autre est démuné des groupes TalD et TalH. De plus, deux des six profils ont aussi perdu le groupe s'apparentant à TalI (Figure 28 ; Diallo et al., in prep). Si on compare avec les résultats obtenus au cours de ma thèse, il semblerait que les TALE d'avirulence identifiés (même si uniquement candidats), c'est-à-dire TalF, TalI, TalH et TalD, tendent à disparaître des TALomes africains. A l'inverse de l'expansion des TALomes, nous pouvons imaginer qu'ici la bactérie utilise une autre stratégie pour lutter contre les mécanismes de défenses de la plante en se débarrassant des effecteurs d'avirulence. Des exemples similaires ont été rapportés dans les cas des champignons *M. oryzae* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Des études démontrent que la présence d'un élément transposable dans les gènes d'avirulence *AVR-Pita* et *AVR1*, respectivement, cause leur inactivation et provoque ainsi un gain de virulence des pathogènes (Kang et al. 2001; Inami et al. 2012). Cependant, une étude préliminaire réalisée au cours de ma thèse, consistant à tester sur IR64 une souche de chaque nouveau profil de TALome identifié, a montré qu'aucune perte d'avirulence n'est associée à la disparition de TalD ou TalH, précédemment rapportés pour induire de la résistance sur cette variété.

V. Que nous reste-t-il à découvrir encore sur les TALE ?

Les TALE sont des protéines à la structure complexe dotées de capacités surprenantes pour des effecteurs bactériens. La découverte de leur existence s'en est suivie de la compréhension de leur structure si particulière, leur permettant d'aller jusqu'au noyau des cellules eucaryotes mais aussi de se fixer au double brin de l'ADN et ainsi d'agir comme des facteurs de transcription eucaryote. En 2009, le code permettant de comprendre l'interaction TALE-ADN est déchiffré (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009), ce qui aida au développement de la technologie TALEN permettant l'édition du génome plus aisément (Bogdanove and Voytas 2011). Grâce à leur capacité à fixer le promoteur de leur gènes cibles, et le développement de logiciel de prédiction de cibles *in silico* (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), les TALE ont aussi permis la découverte de gènes S

et la mise en évidence de nouveaux gènes *R* tels que les gènes *E* (Yang et al. 2006; Antony et al. 2010; Strauß et al. 2012; Wang et al. 2015). Nous pensions avoir déjà tout vu, tout compris. Puis vint la découverte de variants TALE, nommés iTALE ou truncTALE, qui possèdent des délétions dans leur parties N- et C-terminales et dont la région centrale semble toujours fonctionnelle (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). Ces variants TALE permettent d'atténuer les réponses de défenses de la plante causées par le NB-LRR *Xa1* et ses allèles, chez le riz (Ji et al. 2016, 2020; Read et al. 2016). Ces dernières découvertes interrogent sur ce que nous réservent encore ces effecteurs. Si nous savons à l'heure actuelle que les TALE induisent l'expression des gènes qu'ils ciblent, nous n'avons aucune idée sur leur potentielle capacité à réprimer l'expression des gènes. Par ailleurs, leur domaine central étant composé de régions répétées en tandem, nous pouvons supposer que les TALE interagissent avec d'autres protéines, comme le font les NB-LRR, afin de réguler leur activité (positivement ou négativement) (Cesari et al. 2014), ou d'être régulés eux-mêmes. Il a été rapporté qu'en l'absence de pathogènes, des miRNA et siRNA secondaires agissent dans la régulation de l'expression des gènes NB-LRR pour réprimer ces récepteurs immunitaires, puis pour restaurer leurs niveaux basaux dans les phases tardives de l'infection (Zhai et al. 2011; Shivaprasad et al. 2012; Li et al. 2012). Nous pourrions donc émettre l'hypothèse que certains TALE sont réprimés par des mécanismes similaires, ou bien que l'interaction entre des petits ARN et des TALE induise des réponses de défenses de la plante.

VI. Quelles sont les stratégies pour maintenir la résistance des cultures ?

Le type de résistance le plus fréquemment exploité pour les cultures économiques est la résistance gène pour gène (Flor 1971; Gururani et al. 2012). Cette dernière consiste en l'interaction d'une seule protéine de résistance (*R*) de la plante avec une seule protéine d'avirulence (*Avr*) du pathogène. Cette interaction provoque généralement une cascade de réponses de défenses menant le plus souvent à la mort cellulaire locale de la plante, permettant de piéger le pathogène. On peut noter que ce type de résistance est présent autant dans la nature, en l'absence d'anthropisation, que dans le domaine agricole (Barrett et al. 2009; Gururani et al. 2012). Toutefois, la simplicité du modèle gène pour gène (une seule protéine *R* conférant la résistance à tous les pathogènes possédant la protéine *Avr* correspondante) est également ce qui le rend si vulnérable. Pour que l'agent pathogène puisse échapper à la reconnaissance de l'hôte plusieurs mécanismes d'évitement peuvent être mis en place, allant de la simple mutation ponctuelle du gène *Avr* reconnu (Dong et al. 2014) à la délétion du gène entier (Wichmann and Bergelson 2004). De plus, la forte pression de sélection exercée par des hôtes génétiquement uniformes dans les cultures actuelles ne fait qu'accélérer l'évolution des agents pathogènes pour surmonter ces résistances monogéniques, dont l'efficacité dépasse rarement une décennie (McDonald and Linde 2002a; Brown 2015). L'une des clés pour éviter la propagation des

agents pathogènes est d'accroître la complexité des schémas de résistance (McDonald and Linde 2002b). Pour cela, l'association de plusieurs loci, qui contribuent de manière additive ou redondante à la résistance, forcerait l'agent pathogène à évoluer de manière à surmonter plusieurs sources de résistance génétiques distinctes. Diverses stratégies suivant ce principe peuvent être mises en place dans les systèmes de cultures. En partant de la plus simple à la plus complexe, la première méthode consiste à répartir des gènes, dont l'action est redondante, dans divers hôtes de telle sorte que l'ensemble de la population exprime uniformément la résistance, mais avec des bases génétiques sous-jacentes différentes (Mundt 2002; M'Barek et al. 2019). Ce concept peut aussi être transposé à l'échelle d'un seul et même individu qui porterait plusieurs gènes *R*, et est nommé pyramidage de gènes (Zhang et al. 2006; Zhu et al. 2012). Dans le contexte de cette thèse, nous avons mis en évidence un cas de pyramidage naturel de plusieurs sources de résistance aux souches de *Xoo* Africaines dans la variété de riz CT13432, reposant sur l'induction d'un gène exécuteur par *Tall*, ainsi que sur un mécanisme de résistance de type *Xa1*. Par ailleurs, il s'avère que des gènes de résistance à *M. oryzae*, agent causal de la pyriculariose, aient déjà été identifiés dans cette variété, faisant de cette dernière un excellent réservoir de sources de résistance pour créer des variétés améliorées pour l'Afrique. Cependant, il arrive que certains gènes *R* ne soient pas compatibles les uns avec les autres, menant parfois à une forme d'auto-immunité favorisant la résistance au détriment de la biomasse (Chae et al. 2014; Barragan et al. 2019).

La résistance gène pour gène est souvent qualifiée de résistance qualitative, impliquant que les phénotypes observés sont soit de la résistance, soit de la maladie. Cependant il existe d'autres types de résistances que l'on nomme quantitatives car les phénotypes qui en ressortent ne sont pas binaires, mais plutôt graduels. Les résistances quantitatives sont le reflet de l'action de plusieurs gènes, dont la contribution ne permet pas une absence de maladie, mais une réduction de cette dernière (Poland et al. 2009; St.clair 2010; Roux et al. 2014). Comme nous avons pu le caractériser au cours de cette thèse (chapitre 2) la résistance induite par *BAI3* chez *IR64* est la conséquence de l'effet de plusieurs loci. Ce genre de résistance est plus difficilement surmontable par un pathogène, de par le nombre de gènes impliqués mais aussi de par les interactions possibles entre eux et avec l'environnement. Il est donc primordial de caractériser ce type de résistance, bien que complexe, afin de pouvoir exploiter au maximum ces ressources génétiques pour lutter contre les pathogènes.

Conclusions & Perspectives

Au cours de cette thèse, pour la première fois chez des souches Africaines de *Xoo*, deux TALE possédant une activité d'avirulence, et qui induiraient l'expression d'un gène *E* ont été identifiés. D'autre part, un mécanisme de résistance à large spectre actif contre les souches Africaines de *Xoo* a été caractérisé dans plusieurs accessions de riz. Les travaux menés pendant cette thèse ont aussi permis de mettre en lumière plusieurs QTL conférant de la résistance aux souches Africaines MAI1 et BAI3 dans la variété de riz élite IR64. Et pour finir une série de gènes candidats sous-jacents à la résistance de IR64 à MAI1 et BAI3 a été identifiée.

Les résultats obtenus démontrent l'utilité de combiner les approches de gain- et de perte-de-fonction qui se sont révélées être complémentaires et qui ont permis une grande avancée dans la caractérisation du rôle des TALE Africains dans la résistance. L'identification de différents profils de résistance chez IR64 grâce à l'approche de cartographie nous aide à mieux comprendre les divers mécanismes de résistance induits par MAI1 et BAI3. De plus, ces résultats mettent en avant l'importance d'utiliser plusieurs approches telles que la cartographie, l'analyse de transcriptome et la prédiction de cibles, pour identifier des gènes candidats. Chaque jeu de données produit et analysé étant imparfait et ayant ses limites, la combinaison de ces approches permet d'augmenter la probabilité d'identifier le bon candidat. Pour aller plus loin dans l'étude de la résistance induite par TalI chez CT13432, il serait intéressant d'utiliser une approche de type ChIP-seq ("chromatin immunoprecipitation sequencing"). Cette dernière permet d'étudier les interactions ADN/protéine à l'échelle du génome en combinant l'immunoprécipitation de la chromatine avec le séquençage de fragments d'ADN ciblés par des protéines, dans notre cas TalI. Le croisement de ces données avec des analyses de RNAseq et de prédictions d'EBE, si le génome séquencé de cette variété était disponible, favoriserait l'identification du gène *E* induit par TalI. Cette méthode de type ChIP-seq pourrait aussi être utile pour parfaire la liste de gènes candidats déjà établie dans le cas de la résistance induite chez IR64 par TalD, mais potentiellement aussi par d'autres TALE de BAI3 et MAI1. Par la suite, il serait capital de tester les gènes candidats des différents QTL identifiés, tout d'abord en regardant leur niveau d'expression par qPCR, puis en créant des TALE artificiels pour voir si leur induction promeut de la résistance. Enfin, la création de lignées éditées dans ces gènes, ou la transformation de lignées sensibles avec ces gènes de résistance candidats permettrait de confirmer leur rôle.

In fine, il sera primordial d'évaluer le spectre de résistance conféré par les gènes *E* induit par TalI et TalD dans leur variété respective, afin de déterminer si ces gènes peuvent être déployés aux champs

pour lutter contre une large gamme de souches ou uniquement contre MAI1 et BAI3. Dans le but de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à ces résistances, il sera important de poursuivre la caractérisation des TALomes Africains, et plus particulièrement des gènes d'avirulence, afin de déployer des sources de résistance plus durables. L'évaluation de la durabilité des résistances identifiées dans cette étude est fondamentale pour les projets futurs, car comme rapporté précédemment une course aux armements perpétuelle se déroule entre les pathogènes et leur hôtes. C'est pourquoi à l'avenir, identifier et déployer des résistances quantitatives, relevant de l'interaction de plusieurs gènes entre eux et/ou avec l'environnement, mais aussi des variétés cumulant plusieurs gènes de résistance agissant indépendamment contre le même pathogène, sera indispensable afin de lutter contre les mécanismes d'échappement de certaines bactéries. Finalement, étudier les mécanismes d'évolution des répertoires d'effecteurs bactériens, tels que les TALE, via des analyses de type MLVA permettrait de mieux appréhender les stratégies de contournement de la résistance et d'assurer une durabilité pérenne dans les cultures.

Annexes

Confirmation report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* in Senegal

Hamidou Tall^{1,4}, Marlène Lachaux¹, Amadou Diallo^{1,2}, Issa Wonni², Cheick Tékété³, Valérie Verdier¹, Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, IRD, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²Institut de l'Environnement et Recherches Agricoles, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

³USTT-B, FST, DER, LaboREM-Biotech, Bamako, Mali.

⁴Institut Sénégalais de Recherches Agricole (ISRA), Kolda, Sénégal

Xanthomonas oryzae pv. *X. oryzicola* (*Xoc*), the causal agent of Bacterial Leaf Streak (BLS), is considered as one of the most important emerging pathogens of rice in Africa. This disease is estimated as responsible of 20 to 30% yield loss (Sileshi et Gebeyehu 2021) and has been characterized in several west African countries including Mali and Burkina Faso since 2003 and more recently in Ivory Coast (Wonni et al. 2014, Diallo et al. 2021). Presence of BLS symptoms in Senegal were reported by Trinh in 1980 but, to our knowledge, BLS occurrence has never been validated further and no strain of *Xoc* have ever been isolated from Senegalese rice fields. *Xoc* is transmitted by seeds which contribute to its spread through the rice trade (Sileshi et Gebeyehu 2021). To confirm Trinh's observations, we surveyed rice fields between 2014 and 2016 in eight different regions where rice is produced in Senegal. Typical disease symptoms characterized by yellow-brown to black translucent leaf streaks sometimes along with exudates, were detected in fields of several regions and collected. Leaf pieces were successively sanitized, rinsed in sterile water, and symptomatic fragments were ground using the Qiagen Tissue Lyser System (QIAGEN, Courtaboeuf, France). The leaf powder was diluted in 1.5 ml of sterile water and incubated for 30 minutes at room temperature. Ten µl of the suspension was streaked on semi-selective PSA medium and incubated at 28°C for 3 to 7 days. Characteristic round, convex, mucous, straw-yellow *Xoc* candidate colonies were purified from six individual leaf samples from three distinct sites in the northern Senegal River Valley. To confirm their identity, isolated strains were tested for pathogenicity and molecular characterization. All isolates were subjected to the multiplex PCR developed for the identification of *X. oryzae* pathovars (Lang et al., 2010) and revealed the same PCR profile (two amplicons of 324 and 691 base pairs) similar to that of the *Xoc* reference strain

BLS256. Leaves of 5-week-old plants of *O. sativa* cv. Kitaake were infiltrated with a needleless syringe containing a bacterial suspension set at an optical density of 0.5. Upon seven days of incubation under greenhouse conditions ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ with a 12-hour photoperiod), all infiltrated spots (2 spots on 3 plants per isolate) developed water-soaked lesions similar to those caused by control strain BLS256, except when leaves were infiltrated with water. Symptomatic leaf tissues were ground and plated on PSA medium, resulting in colonies with typical *Xanthomonas* morphology that were diagnosed as *Xoc* by multiplex PCR typing, thus fulfilling Koch's postulate. At last, four of the isolates were subjected to *gyrB* sequencing upon PCR amplification using the universal primers XgyrB1F and XgyrB1R (Young et al., 2008). Analysis of 780bp partial *gyrB* sequences of strains S18-3-4, S23-1-12, S52-1-4 and S52-1-10 highlighted 100% identity with the *gyrB* sequence of strain BLS256 (Acc. No. CP003057). To our knowledge, this is the first report of BLS in Senegal which is supported by molecular characterization methods. This study validates the presence of BLS in Senegal and will serve as a basis for future efforts of rice breeding for locally adapted resistance. More studies are needed to clarify the spatial distribution and prevalence of BLS in Senegal as rice cultivation is expanding rapidly in the country.

Acknowledgments.

We acknowledge funding from West Africa Agricultural Productivity Programme (WAAPP).

References:

- Diallo, A et al, 2021. « First report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* in Ivory Coast ». *Plant disease*; 0191-2917
- Lang, J et al, 2010. « Genomics-based diagnostic marker development for *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *X. oryzae* pv. *X. oryzicola* ». *Plant disease* 94 (3) : 311-19.
- Sileshi, G W, and Gebeyehu S. 2021. « Emerging infectious diseases threatening food security and economies in Africa ». *Global Food Security* 28 : 100479.
- Trinh, T T, 1980. « New Rice Diseases and Insects in the Senegal River Basin in 1978/79. » *International Rice Commission Newsletter* 29 (2).
- Wonni, I et al, 2014. « Analysis of *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* population in Mali and Burkina Faso reveals a high level of genetic and pathogenic diversity ». *Phytopathology* 104 (5): 520-31.
- Young, J M et al, 2008. « A multilocus sequence analysis of the genus *Xanthomonas* ». *Systematic and applied microbiology* 31 (5): 366-77.

>gyrB_S18-3-4

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGCTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCCGACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S23-1-12

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGCTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCCGACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S52-1-4

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGCTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCCGACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S52-1-10

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGCTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCCGACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_BLS256

tgatgaccgacgcccagctgacggctgcacatccgtacctgttgctgaccttcttctaccggcagatgccggagctgatcgagcgggctacatctatcggcctgccc
ccgctgtacaagctcaagcaggcaagagcgagctgtatctgaaggacgatgccgctcaacgcctacctggccagcaatgcggtggaaggtgaggcgctgattccggc
caccgacgagcccgatcaccggcgaagcgtggaaaaactgctgatgctgtaccagcgcacgaagcgattgcgcgcaacgcgaccgctacgaccggctttg
ctgaccgattgatgacctgcccggctggatgtggaactgcatgccgaaggcaaccgatccggccctggatgctgagcagtgctcaatcgggcaccctg
ggcaccgcgctaccagttgcttcgacccggcactgagaacgcgctgcccagctggtggcgatccgctcatatggcggaagaattcaccaggtgctgcccgat
ggggcgcttcaagcggcgagctgctccgctgctgaggtatgctggccctgcatgatctggtgctgagggcgcgagatgctgctggcaacaagacc
gatcaccagcttcgcgagggcgacgctgctgctgacgagggcaagaaggccgacgcttcagggcctggggcgaatgaacgccgagcagctgtg
gaaaccacgg

Références bibliographiques

i) Introduction

- Abouelhoda M, El-Kalioby M, Giegerich R (2010) WAMI: a web server for the analysis of minisatellite maps. *BMC Evol Biol* 2010 10:1–9. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-167>
- Adachi H, Derevnina L, Kamoun S (2019) NLR singletons, pairs, and networks: evolution, assembly, and regulation of the intracellular immunoreceptor circuitry of plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 50:121–131
- Ádám AL, Nagy ZÁ, Kátay G, et al (2018) Signals of Systemic Immunity in Plants: Progress and Open Questions. *Int J Mol Sci* 2018, Vol 19, Page 1146 19:1146. <https://doi.org/10.3390/IJMS19041146>
- Ade J, DeYoung BJ, Golstein C, Innes RW (2007) Indirect activation of a plant nucleotide binding site–leucine-rich repeat protein by a bacterial protease. *Proc Natl Acad Sci* 104:2531–2536. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0608779104>
- Afolabi O, Milan B, Poulin L, et al (2014) First Report of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* Causing Bacterial Leaf Streak of Rice in Uganda. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0745-PDN> 98:1579. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0745-PDN>
- Afolabi T, Fundação RA, Cruz O, et al (2016) First Report of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* Causing Bacterial Leaf Streak of Rice in Burundi Diversity of blast, Rice Yellow Mottle Virus, *Pantoea* spp. and *Sphingomonas* spp. in Africa and screening rice germplasm for disease resistance View project Pathogen-Host interaction for Rice blast disease in Uganda View project. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-14-0504-PDN>
- Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- Al-Saadi A, Reddy JD, Duan YP, et al (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. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-20-8-0934> 20:934–943. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-8-0934>
- Albar L, Lorieux M, Ahmadi N, et al (1998) Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus. I. QTLs identification and relationship between resistance and plant morphology. *Theor Appl Genet* 1998 977 97:1145–1154. <https://doi.org/10.1007/S001220051003>
- Albar L, Ndjiondjop M-N, Eshak · Z, et al (2003) Fine genetic mapping of a gene required for Rice yellow mottle virus cell-to-cell movement. *Theor Appl Genet* 107:371–378. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1258-4>
- Alfano JR, Collmer A (2004) TYPE III SECRETION SYSTEM EFFECTOR PROTEINS: Double Agents in Bacterial Disease and Plant Defense.

<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040103.110731> 42:385–414. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.42.040103.110731>

- Ali ML, Sanchez PL, Yu S bin, et al (2010) Chromosome segment substitution lines: A powerful tool for the introgression of valuable genes from *Oryza* wild species into cultivated rice (*O. sativa*). *Rice* 3:218–234. <https://doi.org/10.1007/s12284-010-9058-3>
- Allaby RG, Fuller DQ, Brown TA (2008) The genetic expectations of a protracted model for the origins of domesticated crops. *Proc Natl Acad Sci* 105:13982–13986. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0803780105>
- Alvarez-Martinez CE, Christie PJ (2009) Biological Diversity of Prokaryotic Type IV Secretion Systems. *Microbiol Mol Biol Rev* 73:775–808. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00023-09>
- Andersen EJ, Nepal MP (2019) Diversification of Disease Resistance Receptors by Integrated Domain Fusions in Wheat and its Progenitors. *bioRxiv* 695148. <https://doi.org/10.1101/695148>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Arumuganathan K, Earle ED (1991) Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol Biol Report* 1991 93 9:208–218. <https://doi.org/10.1007/BF02672069>
- Ashikawa I, Hayashi N, Yamane H, et al (2008) Two Adjacent Nucleotide-Binding Site–Leucine-Rich Repeat Class Genes Are Required to Confer Pikm-Specific Rice Blast Resistance. *Genetics* 180:2267–2276. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.095034>
- Aslam SN, Newman MA, Erbs G, et al (2008) Bacterial Polysaccharides Suppress Induced Innate Immunity by Calcium Chelation. *Curr Biol* 18:1078–1083. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2008.06.061>
- Aung K, Jiang Y, He SY (2018) The role of water in plant–microbe interactions. *Plant J* 93:771–780. <https://doi.org/10.1111/tpj.13795>
- Awoderu VA, Bangura N, John VT (2008) Incidence, distribution and severity of bacterial diseases on rice in West Africa. <http://dx.doi.org/10.1080/09670879109371553> 37:113–117. <https://doi.org/10.1080/09670879109371553>
- Axtell MJ, Staskawicz BJ (2003) Initiation of RPS2-Specified Disease Resistance in *Arabidopsis* Is Coupled to the AvrRpt2-Directed Elimination of RIN4. *Cell* 112:369–377. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00036-9)
- Azzam O, Chancellor TCB (2002) The Biology, Epidemiology, and Management of Rice Tungro Disease in Asia. 86:88–100
- Baggs E, Dagdas G, Krasileva K V. (2017) NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR IDentity. *Curr Opin Plant Biol* 38:59–67. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2017.04.012>

- Ballvora A, Pierre M, Van den Ackerveken G, et al (2001) Genetic mapping and functional analysis of the tomato Bs4 locus governing recognition of the *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* AvrBs4 protein. *Mol Plant-Microbe Interact* 14:629–638.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.5.629>
- Balmer D, Planchamp C, Mauch-Mani B (2013) On the move: induced resistance in monocots. *J Exp Bot* 64:1249–1261. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERS248>
- Bandillo N, Raghavan C, Muyco PA, et al (2013) Multi-parent advanced generation inter-cross (MAGIC) populations in rice: Progress and potential for genetics research and breeding. *Rice* 6:1–15. <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-11>
- Baptista JC, Machado MA, Homem RA, et al (2010) Mutation in the xpsD gene of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* affects cellulose degradation and virulence. *Genet Mol Biol* 33:146–153.
<https://doi.org/10.1590/S1415-47572009005000110>
- Bari R, Jones JDG (2009) Role of plant hormones in plant defence responses.
<https://doi.org/10.1007/s11103-008-9435-0>
- Barragan CA, Wu R, Kim ST, et al (2019) RPW8/HR repeats control NLR activation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet* 15:e1008313. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008313>
- Barrett LG, Thrall PH, Dodds PN, et al (2009) Diversity and Evolution of Effector Loci in Natural Populations of the Plant Pathogen *Melampsora lini*. *Mol Biol Evol* 26:2499–2513.
<https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSP166>
- Basler M, Mekalanos JJ (2012) Type 6 Secretion Dynamics Within and Between Bacterial Cells. *Science* (80-) 337:815–815. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1222901>
- Bastedo DP, Khan M, Martel A, et al (2019) Perturbations of the ZED1 pseudokinase activate plant immunity. *PLOS Pathog* 15:e1007900. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1007900>
- Bauer Z, Gómez-Gómez L, Boller T, Felix G (2001) Sensitivity of Different Ecotypes and Mutants of *Arabidopsis thaliana* toward the Bacterial Elicitor Flagellin Correlates with the Presence of Receptor-binding Sites *. *J Biol Chem* 276:45669–45676.
<https://doi.org/10.1074/JBC.M102390200>
- Bayer-Santos E, DeMoraes Ceseti L, Farah CS, et al (2019) Distribution, function and regulation of type 6 secretion systems of Xanthomonadales. *Front Microbiol* 10:1–10.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01635>
- Bayer-Santos E, Lima L dos P, Ceseti L de M, et al (2018) *Xanthomonas citri* T6SS mediates resistance to *Dictyostelium* predation and is regulated by an ECF σ factor and cognate Ser/Thr kinase. *Environ Microbiol* 20:1562–1575. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14085>
- Bellafiore S, Briggs SP (2010) Nematode effectors and plant responses to infection. *Curr Opin Plant Biol* 13:442–448. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2010.05.006>
- Bernard GC, Egnin M, Bonsi C (2017) The Impact of Plant-Parasitic Nematodes on Agriculture and Methods of Control. *Nematol - Concepts, Diagnosis Control*.
<https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.68958>

- Bethke G, Pecher P, Eschen-Lippold L, et al (2012) Activation of the *Arabidopsis thaliana* Mitogen-Activated Protein Kinase MPK11 by the Flagellin-Derived Elicitor Peptide, flg22. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-11-11-0281> 25:471–480. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-11-0281>
- Bhasin H, Bhatia D, Raghuvanshi S, et al (2011) New PCR-based sequence-tagged site marker for bacterial blight resistance gene Xa38 of rice. *Mol Breed* 2011 301 30:607–611. <https://doi.org/10.1007/S11032-011-9646-Y>
- Bi G, Zhou Z, Wang W, et al (2018) Receptor-Like Cytoplasmic Kinases Directly Link Diverse Pattern Recognition Receptors to the Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase Cascades in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 30:1543–1561. <https://doi.org/10.1105/TPC.17.00981>
- Biezen EA Van Der, Jones JDG (1998) Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. *Trends Biochem Sci* 23:454–456. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(98\)01311-5](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(98)01311-5)
- Bigeard J, Colcombet J, Hirt H (2015) Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). *Mol Plant* 8:521–539. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.022>
- Bimolata W, Kumar A, Sundaram RM, et al (2013) Analysis of nucleotide diversity among alleles of the major bacterial blight resistance gene Xa27 in cultivars of rice (*Oryza sativa*) and its wild relatives. *Planta* 238:293–305. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1891-3>
- Boch J, Bonas U, Lahaye T (2014) TAL effectors - pathogen strategies and plant resistance engineering. *New Phytol* 204:823–832. <https://doi.org/10.1111/nph.13015>
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512. <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bogdanove AJ, Voytas DF (2011) TAL effectors: Customizable proteins for DNA targeting. *Science* (80-) 333:1843–1846. <https://doi.org/10.1126/science.1204094>
- Bonas U (1994) *hrp* Genes of Phytopathogenic Bacteria. *Curr Top Microbiol Immunol* 192:79–96. https://doi.org/10.1007/978-3-642-78624-2_4
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Boutrot F, Zipfel C (2017) Function, Discovery, and Exploitation of Plant Pattern Recognition Receptors for Broad-Spectrum Disease Resistance. *Annu Rev Phytopathol* 55:257–286. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120106>
- Brar, Khush (1997) Wide hybridization for rice improvements : alien gene transfer and molecular characterization of introgression. *Interspecific Hybrid Prog Prospect WARDA* 21–29
- Brown I, Trethowan J, Kerry M, et al (1998) Localization of components of the oxidative cross-linking of glycoproteins and of callose synthesis in papillae formed during the interaction between non-pathogenic strains of *Xanthomonas campestris* and French bean mesophyll cells. *Plant J*

- Brown JKM (2015) Durable Resistance of Crops to Disease: A Darwinian Perspective. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045914> 53:513–539.
<https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-102313-045914>
- Buddenhagen IW (1979) Bacterial blight found in Africa. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19801367355>. Accessed 14 Aug 2021
- Busungu C, Taura S, Sakagami J-II, Ichitani K (2016) Identification and linkage analysis of a new rice bacterial blight resistance gene from XM14, a mutant line from IR24. *Breed Sci* 66:636–645. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.16062>
- Busungu C, Taura S, Sakagami JI, et al (2018) High-resolution mapping and characterization of xa42, a resistance gene against multiple xanthomonas oryzae pv. Oryzae races in rice (oryza sativa l.). *Breed Sci* 68:188–199. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.17094>
- Büttner D, Bonas U (2002) Getting across—bacterial type III effector proteins on their way to the plant cell. *EMBO J* 21:5313–5322. <https://doi.org/10.1093/EMBOJ/CDF536>
- Byrum SD, Taverna SD, Tackett AJ (2013) Purification of a specific native genomic locus for proteomic analysis. *Nucleic Acids Res* 41:e195–e195. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT822>
- Calil IP, Fontes EPB (2017) Plant immunity against viruses: antiviral immune receptors in focus. *Ann Bot* 119:711–723. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCW200>
- Cascales E, Christie PJ (2003) The versatile bacterial type IV secretion systems. *Nat Rev Microbiol* 2003 12 1:137–149. <https://doi.org/10.1038/nrmicro753>
- Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- Cesari S, Bernoux M, Moncuquet P, et al (2014) A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: The “integrated decoy” hypothesis. *Front Plant Sci* 5:606. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00606>
- Césari S, Kanzaki H, Fujiwara T, et al (2014) The NB-LRR proteins RGA 4 and RGA 5 interact functionally and physically to confer disease resistance. *EMBO J* 33:1941–1959. <https://doi.org/10.15252/embj.201487923>
- Césari S, Thilliez G, Ribot C, et al (2013) The Rice Resistance Protein Pair RGA4/RGA5 Recognizes the Magnaporthe oryzae Effectors AVR-Pia and AVR1-CO39 by Direct Binding. *Plant Cell* 25:1463–1481. <https://doi.org/10.1105/TPC.112.107201>
- Chae E, Bomblies K, Kim ST, et al (2014) Species-wide Genetic Incompatibility Analysis Identifies Immune Genes as Hot Spots of Deleterious Epistasis. *Cell* 159:1341–1351. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.10.049>
- Chai HB, Doke N (1987) Activation of the potential of potato leaf tissue to react hypersensitively to *Phytophthora infestans* by cytosporic germination fluid and the enhancement of this potential by calcium ions. *Physiol Mol Plant Pathol* 30:27–37. [https://doi.org/10.1016/0885-5765\(87\)90080-4](https://doi.org/10.1016/0885-5765(87)90080-4)

- Cheema KK, Grewal NK, Vikal Y, et al (2008) A novel bacterial blight resistance gene from *Oryza nivara* mapped to 38 kb region on chromosome 4L and transferred to *Oryza sativa* L. *Genet Res (Camb)* 90:397–407. <https://doi.org/10.1017/S0016672308009786>
- Chen H, Xue L, Chintamanani S, et al (2009a) ETHYLENE INSENSITIVE3 and ETHYLENE INSENSITIVE3-LIKE1 Repress SALICYLIC ACID INDUCTION DEFICIENT2 Expression to Negatively Regulate Plant Innate Immunity in Arabidopsis. *Plant Cell* 21:2527–2540. <https://doi.org/10.1105/TPC.108.065193>
- Chen L-Q (2014) SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. *New Phytol* 201:1150–1155. <https://doi.org/10.1111/NPH.12445>
- Chen L-Q, Cheung LS, Feng L, et al (2015) Transport of Sugars. <http://dx.doi.org/101146/annurev-biochem-060614-033904> 84:865–894. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-BIOCHEM-060614-033904>
- Chen L-Q, Hou B-H, Lalonde S, et al (2010) Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nat* 2010 4687323 468:527–532. <https://doi.org/10.1038/nature09606>
- Chen S, Huang Z, Zeng L, et al (2008) High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae* resistance gene Xa7. *Mol Breed* 2008 223 22:433–441. <https://doi.org/10.1007/S11032-008-9187-1>
- Chen S, Liu X, Zeng L, et al (2011) Genetic analysis and molecular mapping of a novel recessive gene xa34(t) for resistance against *xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Theor Appl Genet* 122:1331–1338. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1534-7>
- Chen S, Wang C, Yang J, et al (2020) Identification of the novel bacterial blight resistance gene Xa46(t) by mapping and expression analysis of the rice mutant H120. *Sci Rep* 10:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69639-y>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chen X, Steed A, Travella S, et al (2009b) *Fusarium graminearum* exploits ethylene signalling to colonize dicotyledonous and monocotyledonous plants. *New Phytol* 182:975–983. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2009.02821.X>
- Chen X, Zuo S, Schwessinger B, et al (2014) An XA21-associated kinase (OsSERK2) regulates immunity mediated by the XA21 and XA3 immune receptors. *Mol Plant* 7:874–892. <https://doi.org/10.1093/MP/SSU003>
- Cheng H, Liu H, Deng Y, et al (2015) The WRKY45-2 WRKY13 WRKY42 transcriptional regulatory cascade is required for rice resistance to fungal pathogen. *Plant Physiol* 167:1087–1099. <https://doi.org/10.1104/PP.114.256016>
- Cheong H, Kim C-Y, Jeon J-S, et al (2013) *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Type III Effector XopN Targets OsVOZ2 and a Putative Thiamine Synthase as a Virulence Factor in Rice. *PLoS One* 8:e73346. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0073346>

- Chinchilla D, Zipfel C, Robatzek S, et al (2007) A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nat* 2007 448:497–500.
<https://doi.org/10.1038/nature05999>
- Chong J, Piron M-C, Meyer S, et al (2014) The SWEET family of sugar transporters in grapevine: VvSWEET4 is involved in the interaction with *Botrytis cinerea*. *J Exp Bot* 65:6589–6601.
<https://doi.org/10.1093/JXB/ERU375>
- Chou FL, Chou HC, Lin YS, et al (1997) The *Xanthomonas campestris* gumD Gene Required for Synthesis of Xanthan Gum Is Involved in Normal Pigmentation and Virulence in Causing Black Rot. *Biochem Biophys Res Commun* 233:265–269.
<https://doi.org/10.1006/BBRC.1997.6365>
- Christian M, Cermak T, Doyle EL, et al (2010) Targeting DNA Double-Strand Breaks with TAL Effector Nucleases. *Genetics* 186:757–761. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.110.120717>
- Chukwu SC, Rafii · M Y, Ramlee · S I, et al (2019) Bacterial leaf blight resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approach. *Mol Biol Rep* 46:1519–1532.
<https://doi.org/10.1007/s11033-019-04584-2>
- Chung EH, Da Cunha L, Wu AJ, et al (2011) Specific Threonine Phosphorylation of a Host Target by Two Unrelated Type III Effectors Activates a Host Innate Immune Receptor in Plants. *Cell Host Microbe* 9:125–136. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2011.01.009>
- Cianciotto NP, White RC (2017) Expanding role of type II secretion in bacterial pathogenesis and beyond. *Infect Immun* 85:. <https://doi.org/10.1128/IAI.00014-17>
- Cianfanelli FR, Monlezun L, Coulthurst SJ (2016) Aim, Load, Fire: The Type VI Secretion System, a Bacterial Nanoweapon. *Trends Microbiol* 24:51–62.
<https://doi.org/10.1016/J.TIM.2015.10.005>
- Civán P, Craig H, Cox CJ, Brown TA (2015) Three geographically separate domestications of Asian rice. *Nat Plants* 1:15164. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.164>
- Cohn M, Bart RS, Shybut M, et al (2014) *Xanthomonas axonopodis* Virulence Is Promoted by a Transcription Activator-Like Effector–Mediated Induction of a SWEET Sugar Transporter in Cassava. <http://dx.doi.org/101094/MPMI-06-14-0161-R> 27:1186–1198.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-06-14-0161-R>
- Cox KL, Meng F, Wilkins KE, et al (2017) TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. *Nat Commun* 8:15588.
<https://doi.org/10.1038/ncomms15588>
- Cruz RP da, Sperotto RA, Cargnelutti D, et al (2013) Avoiding damage and achieving cold tolerance in rice plants. *Food Energy Secur* 2:96–119. <https://doi.org/10.1002/FES3.25>
- Cunningham F, Amode MR, Barrell D, et al (2015) Ensembl 2015. *Nucleic Acids Res* 43:D662–D669. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1010>

- da Silva ACR, Ferro JA, Reinach FC, et al (2002) Comparison of the genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities. *Nat* 2002 4176887 417:459–463.
<https://doi.org/10.1038/417459a>
- Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ (2013) Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* (80-) 341:746–751. <https://doi.org/10.1126/science.1236011>
- Dangl JL, Jones JDG (2001) Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411:826–833. <https://doi.org/10.1038/35081161>
- Dar AA, Mahajan R, Sharma S (2019) Molecular markers for characterization and conservation of plant genetic resources Characterisation of common bean germplasm View project. *Artic Indian J Agric Sci*
- Darsonval A, Darrasse A, Durand K, et al (2009) Adhesion and Fitness in the Bean Phyllosphere and Transmission to Seed of *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans*.
<http://dx.doi.org/101094/MPMI-22-6-0747> 22:747–757. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-6-0747>
- Das A, Rangaraj N, Sonti R V. (2008) Multiple Adhesin-Like Functions of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Are Involved in Promoting Leaf Attachment, Entry, and Virulence on Rice.
<http://dx.doi.org/101094/MPMI-22-1-0073> 22:73–85. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-1-0073>
- De La Concepcion JC, Franceschetti M, Maclean D, et al (2019) Protein engineering expands the effector recognition profile of a rice NLR immune receptor. *Elife* 8:.
<https://doi.org/10.7554/ELIFE.47713>
- De Lange O, Binder A, Lahaye T (2014) From dead leaf, to new life: TAL effectors as tools for synthetic biology. *Plant J* 78:753–771. <https://doi.org/10.1111/tpj.12431>
- De Vleeschauwer D, Xu J, Höfte M (2014) Making sense of hormone-mediated defense networking: from rice to *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 0:611.
<https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00611>
- Deng D, Yan C, Pan X, et al (2012a) Structural Basis for Sequence-Specific Recognition of DNA by TAL Effectors. *Science* (80-) 335:720–723. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1215670>
- Deng H, Liu H, Li X, et al (2012b) A CCCH-type zinc finger nucleic acid-binding protein quantitatively confers resistance against rice bacterial blight disease. *Plant Physiol* 158:876–889. <https://doi.org/10.1104/PP.111.191379>
- Deng W, Marshall NC, Rowland JL, et al (2017) Assembly, structure, function and regulation of type III secretion systems. *Nat Rev Microbiol* 15:323–337.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.20>
- Denoux C, Galletti R, Mammarella N, et al (2008) Activation of defense response pathways by OGs and Flg22 elicitors in *Arabidopsis* seedlings. *Mol Plant* 1:423–445. <https://doi.org/10.1093/mp/ssn019>

- Dharmapuri S, Sonti R V. (1999) A transposon insertion in the gumG homologue of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causes loss of extracellular polysaccharide production and virulence. *FEMS Microbiol Lett* 179:53–59. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6968.1999.TB08707.X>
- Diallo MA, Zougrana MS, Sawadogo PM, et al (2021) First report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* in Ivory Coast. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0811-PDN>. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0811-PDN>
- Djedatin G, Ndjioudjop M-NN, Sanni A, et al (2016) Identification of novel major and minor QTLs associated with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (African strains) resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice* 9:1–10. <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0090-9>
- Dodds PN, Rathjen JP (2010) Plant immunity: Towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nat Rev Genet* 11:539–548. <https://doi.org/10.1038/nrg2812>
- Dong S, Stam R, Cano LM, et al (2014) Effector Specialization in a Lineage of the Irish Potato Famine Pathogen. *Science* (80-) 343:552–555. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1246300>
- Doucouré H, Pérez-Quintero AL, Reshetnyak G, et al (2018) Functional and genome sequence-driven characterization of tal effector gene repertoires reveals novel variants with altered specificities in closely related malian *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains. *Front Microbiol* 9:1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01657>
- Dow JM, Crossman L, Findlay K, et al (2003) Biofilm dispersal in *Xanthomonas campestris* is controlled by cell–cell signaling and is required for full virulence to plants. *Proc Natl Acad Sci* 100:10995–11000. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1833360100>
- Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT) 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122. <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>
- Drobnak I, Braselmann E, Chaney JL, et al (2015) Of linkers and autochaperones: an unambiguous nomenclature to identify common and uncommon themes for autotransporter secretion. *Mol Microbiol* 95:1–16. <https://doi.org/10.1111/MMI.12838>
- Droc G, Ruiz M, Larmande P, et al (2006) OryGenesDB: a database for rice reverse genetics. *Nucleic Acids Res* 34:D736–D740. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj012>
- Duan S, Jia H, Pang Z, et al (2018) Functional characterization of the citrus canker susceptibility gene CsLOB1. *Mol Plant Pathol* 19:1908–1916. <https://doi.org/10.1111/MPP.12667>
- Dunger G, Relling VM, Tondo ML, et al (2007) Xanthan is not essential for pathogenicity in citrus canker but contributes to *Xanthomonas epiphytic* survival. *Arch Microbiol* 2007 1882 188:127–135. <https://doi.org/10.1007/S00203-007-0227-8>
- Duxbury Z, Wu CH, Ding P (2021) A Comparative Overview of the Intracellular Guardians of Plants and Animals: NLRs in Innate Immunity and Beyond. *Annu Rev Plant Biol* 72:155–184. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-080620-104948>

- Edwards MD, Stuber CW, Wendel JF (1987) Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize. I. Numbers, genomic distribution and types of gene action. *Genetics* 116:113–125. <https://doi.org/10.1093/genetics/116.1.113>
- El Kasmi F, Horvath D, Lahaye T (2018) Microbial effectors and the role of water and sugar in the infection battle ground. *Curr Opin Plant Biol* 44:98–107. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2018.02.011>
- Ellis J, Jones D (1998) Structure and function of proteins controlling strain-specific pathogen resistance in plants. *Curr Opin Plant Biol* 1:288–293. [https://doi.org/10.1016/1369-5266\(88\)80048-7](https://doi.org/10.1016/1369-5266(88)80048-7)
- Eom J-S, Chen L-Q, Sosso D, et al (2015) SWEETs, transporters for intracellular and intercellular sugar translocation. *Curr Opin Plant Biol* 25:53–62. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.04.005>
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2019) PrediTALe: A novel model learned from quantitative data allows for new perspectives on TALE targeting. *Public Library of Science*
- Erkes A, Reschke M, Boch J, Grau J (2017) Evolution of transcription activator-like effectors in *Xanthomonas oryzae*. *Genome Biol Evol* 9:1599–1699. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx108>
- Escalon A, Javegny S, Vernière C, 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. <https://doi.org/10.1111/MPP.12019>
- Eshed Y, Zamir D (1995) An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL. *Genetics* 141:1147–1162. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/141.3.1147>
- Fang C -t., Ken H -c., Chen T -y., et al (1957) A comparison of the Rice bacterial leaf blight organism with the bacterial leaf streak organisms of Rice and *Leersia hexandra* Swartz. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19581101830>. Accessed 14 Aug 2021
- Feng CY, Han JX, Han XX, Jiang J (2015) Genome-wide identification, phylogeny, and expression analysis of the SWEET gene family in tomato. *Gene* 573:261–272. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2015.07.055>
- Feng F, Yang F, Rong W, et al (2012) A *Xanthomonas* uridine 5'-monophosphate transferase inhibits plant immune kinases. *Nat* 2012 4857396 485:114–118. <https://doi.org/10.1038/nature10962>
- Ferreira RM, de Oliveira ACP, Moreira LM, et al (2015) A TALE of Transposition: Tn3-like transposons play a major role in the spread of pathogenicity determinants of *xanthomonas citri* and other *xanthomonads*. *MBio* 6:. <https://doi.org/10.1128/MBIO.02505-14>
- Fine EJ, Cradick TJ, Zhao CL, et al (2014) An online bioinformatics tool predicts zinc finger and TALE nuclease off-target cleavage. *Nucleic Acids Res* 42:e42–e42. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1326>
- Flor HH (1971) Current status of the gene-fob-gene concept. 275–296

- Foley JA, Ramankutty N, Brauman KA, et al (2011) Solutions for a cultivated planet. *Nat* 2011 478:337–342. <https://doi.org/10.1038/nature10452>
- Fu J, Liu H, Li Y, et al (2011) Manipulating Broad-Spectrum Disease Resistance by Suppressing Pathogen-Induced Auxin Accumulation in Rice. *Plant Physiol* 155:589–602. <https://doi.org/10.1104/PP.110.163774>
- Fu ZQ, Dong X (2013) Systemic Acquired Resistance: Turning Local Infection into Global Defense. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105606> 64:839–863. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ARPLANT-042811-105606>
- Fujita T, Asano Y, Ohtsuka J, et al (2013) Identification of telomere-associated molecules by engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation (enChIP). *Sci Reports* 2013 31 3:1–7. <https://doi.org/10.1038/srep03171>
- Fuller DQ (2007) Contrasting Patterns in Crop Domestication and Domestication Rates: Recent Archaeobotanical Insights from the Old World. *Ann Bot* 100:903–924. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCM048>
- Gaffney T, Friedrich L, Vernooij B, et al (1993) Requirement of Salicylic Acid for the Induction of Systemic Acquired Resistance. *Science* (80-) 261:754–756. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.261.5122.754>
- Gaige AR, Ayella A, Shuai B (2010) Methyl jasmonate and ethylene induce partial resistance in *Medicago truncatula* against the charcoal rot pathogen *Macrophomina phaseolina*. *Physiol Mol Plant Pathol* 74:412–418. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2010.07.001>
- Gao Q, Kachroo A, Kachroo P (2014) Chemical inducers of systemic immunity in plants. *J Exp Bot* 65:1849–1855. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU010>
- Garavito A, Guyot R, Lozano J, et al (2010) A Genetic Model for the Female Sterility Barrier Between Asian and African Cultivated Rice Species. *Genetics* 185:1425–1440. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.110.116772>
- Garg AK, Kim J-K, Owens TG, et al (2002) Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proc Natl Acad Sci* 99:15898–15903. <https://doi.org/10.1073/PNAS.252637799>
- Garita-Cambronero J, Palacio-Bielsa A, López MM, Cubero J (2017) Pan-Genomic Analysis Permits Differentiation of Virulent and Non-virulent Strains of *Xanthomonas arboricola* That Cohabit *Prunus* spp. and Elucidate Bacterial Virulence Factors. *Front Microbiol* 0:573. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.00573>
- Garris AJ, Tai TH, Coburn J, et al (2005) Genetic Structure and Diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* 169:1631–1638. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.035642>
- Gerlach RG, Hensel M (2007) Protein secretion systems and adhesins: The molecular armory of Gram-negative pathogens. *Int J Med Microbiol* 297:401–415. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.03.017>

- Glazebrook J (2005) Contrasting Mechanisms of Defense Against Biotrophic and Necrotrophic Pathogens. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto43040204135923> 43:205–227.
<https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.43.040204.135923>
- Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, et al (2010) Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science* (80-) 327:812–818. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1185383>
- Goff SA, Ricke D, Lan T-H, et al (2002) A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). *Science* (80-) 296:92–100. <https://doi.org/10.1126/science.1068275>
- Gómez-Gómez L, 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.
[https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(00\)80265-8](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)80265-8)
- Gómez-Gómez L, Felix G, Boller T (1999) A single locus determines sensitivity to bacterial flagellin in Arabidopsis thaliana. *Plant J* 18:277–284. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.00451.x>
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gonzalez CF (1991) *Leersia hexandra*, an Alternative Host for *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in Texas . *Plant Dis* 75:159. <https://doi.org/10.1094/PD-75-0159>
- González VM, Müller S, Baulcombe D, Puigdomènech P (2015) Evolution of NBS-LRR Gene Copies among Dicot Plants and its Regulation by Members of the miR482/2118 Superfamily of miRNAs. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.013>
- Goodner B, Hinkle G, Gattung S, et al (2001) Genome Sequence of the Plant Pathogen and Biotechnology Agent *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* (80-) 294:2323–2328. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1066803>
- Gordon JL, Lefeuvre P, Escalon A, et al (2015) Comparative genomics of 43 strains of *Xanthomonas citri* pv. *citri* reveals the evolutionary events giving rise to pathotypes with different host ranges. *BMC Genomics* 2015 16:1–20. <https://doi.org/10.1186/S12864-015-2310-X>
- Goto F, Yoshihara T, Shigemoto N, et al (1999) Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene. *Nat Biotechnol* 17:282–286. <https://doi.org/10.1038/7029>
- Goto M (1992) *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. 365
- Goto T, MATSUMOTO T, FURUYA N, et al (2009) Mapping of Bacterial Blight Resistance Gene Xa11 on Rice Chromosome 3. *Japan Agric Res Q JARQ* 43:221–225.
<https://doi.org/10.6090/JARQ.43.221>
- Gottig N, Garavaglia BS, Garofalo CG, et al (2009) A Filamentous Hemagglutinin-Like Protein of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, the Phytopathogen Responsible for Citrus Canker, Is Involved in Bacterial Virulence. *PLoS One* 4:e4358.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0004358>

- Grant M, Brown I, Adams S, et al (2000) The RPM1 plant disease resistance gene facilitates a rapid and sustained increase in cytosolic calcium that is necessary for the oxidative burst and hypersensitive cell death. *Plant J* 23:441–450. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2000.00804.x>
- Grant M, Lamb C (2006) Systemic immunity. *Curr Opin Plant Biol* 9:414–420. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2006.05.013>
- Grau J, Boch J, Posch S (2013a) TALENoffer: genome-wide TALEN off-target prediction. *Bioinformatics* 29:2931–2932. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTT501>
- Grau J, Keilwagen J, Posch S, Grosse I (2012) Jstacs: A Java Framework for Statistical Analysis and Classification of Biological Sequences André Gohr Berit Haldemann. *J Mach Learn Res* 13:1967–1971
- Grau J, Wolf A, Reschke M, et al (2013b) Computational Predictions Provide Insights into the Biology of TAL Effector Target Sites. *PLOS Comput Biol* 9:e1002962. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1002962>
- Greenberg JT, Yao N (2004) The role of regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cell Microbiol* 6:201–211. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2004.00361.x>
- Grellet-Bournonville CF, Martinez-Zamora MG, Castagnaro AP, Díaz-Ricci JC (2012) Temporal accumulation of salicylic acid activates the defense response against *Colletotrichum* in strawberry. *Plant Physiol Biochem* 54:10–16. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2012.01.019>
- Griebel T, Maekawa T, Parker JE (2014) NOD-like receptor cooperativity in effector-triggered immunity. *Trends Immunol* 35:562–570. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2014.09.005>
- Gross BL, Zhao Z (2014) Archaeological and genetic insights into the origins of domesticated rice. *Proc Natl Acad Sci* 111:6190–6197. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1308942110>
- Gu K, Sangha JS, Li Y, Yin Z (2008) High-resolution genetic mapping of bacterial blight resistance gene Xa10. *Theor Appl Genet* 116:155–163. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0655-5>
- Gu K, Tian D, Qiu C, Yin Z (2009) Transcription activator-like type III effector avrxa27 depends on ostfiiay5 for the activation of Xa27 transcription in rice that triggers disease resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*: Short communication. *Mol Plant Pathol* 10:829–835. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00567.x>
- Gu K, Tian D, Yang F, et al (2004) High-resolution genetic mapping of Xa27(t), a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 108:800–807. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1491-x>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Guo S, Zhang D, Lin X (2010) Identification and Mapping of a Novel Bacterial Blight Resistance. *Sci Agric Sin* 43:2611–2618

- Gururani MA, Venkatesh J, Upadhyaya CP, et al (2012) Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiol Mol Plant Pathol* 78:51–65. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2012.01.002>
- Gutterson N, Reuber TL (2004) Regulation of disease resistance pathways by AP2/ERF transcription factors. *Curr Opin Plant Biol* 7:465–471. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.04.007>
- H. Gridley MJ and MW-P (2002) Development of new rice for Africa (NERICA) and participatory varietal selection. In: *Breeding rainfed rice for drought -prone environment: interacting conventional and participatory plant breeding in South and Southeast Asia. Proceedings of a DFID plant sciences research programme/IRRI conference.* pp 23–28
- Hachani A, Wood TE, Filloux A (2016) Type VI secretion and anti-host effectors. *Curr Opin Microbiol* 29:81–93. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2015.11.006>
- Halim VA, Eschen-Lippold L, Altmann S, et al (2007) Salicylic acid is important for basal defense of *Solanum tuberosum* Against *Phytophthora infestans*. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:1346–1352. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-11-1346>
- Hamann T (2012) Plant cell wall integrity maintenance as an essential component of biotic stress response mechanisms. *Front Plant Sci* 0:77. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2012.00077>
- Han J, Xia Z, Liu P, et al (2020) TALEN-based editing of TFIIA5 changes rice response to *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *Sci Reports* 2020 10:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59052-w>
- Hann DR, Rathjen JP (2007) Early events in the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* on *Nicotiana benthamiana*. *Plant J* 49:607–618. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02981.x>
- Hayafune M, Berisio R, Marchetti R, et al (2014) Chitin-induced activation of immune signaling by the rice receptor CEBiP relies on a unique sandwich-type dimerization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E404–E413. <https://doi.org/10.1073/pnas.1312099111>
- He Q, Li D, Zhu Y, et al (2006) Fine Mapping of Xa2, a Bacterial Blight Resistance Gene in Rice. *Mol Breed* 2006 17:1–6. <https://doi.org/10.1007/S11032-005-8698-2>
- Hébrard E, Froissart R, Louis C, Blanc S (1999) Les modes de transmission des virus phytopathogènes par vecteurs. *Virologie* 3:35–48
- Heigwer F, Kerr G, Walther N, et al (2013) E-TALEN: a web tool to design TALENs for genome engineering. *Nucleic Acids Res* 41:e190–e190. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT789>
- Helliwell EE, Wang Q, Yang Y (2013) Transgenic rice with inducible ethylene production exhibits broad-spectrum disease resistance to the fungal pathogens *Magnaporthe oryzae* and *Rhizoctonia solani*. *Plant Biotechnol J* 11:33–42. <https://doi.org/10.1111/PBI.12004>
- Hirabayashi H, Sasaki K, Kambe T, et al (2015) qEMF3, a novel QTL for the early-morning flowering trait from wild rice, *Oryza officinalis*, to mitigate heat stress damage at flowering in rice, *O. sativa*. *J Exp Bot* 66:1227–1236. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU474>

- Hoffman T, Schmidt JS, Zheng X, Bent AF (1999) Isolation of Ethylene-Insensitive Soybean Mutants That Are Altered in Pathogen Susceptibility and Gene-for-Gene Disease Resistance. *Plant Physiol* 119:935–950. <https://doi.org/10.1104/PP.119.3.935>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Howe GA, Jander G (2008) Plant Immunity to Insect Herbivores. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant59032607092825> 59:41–66. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.ARPLANT.59.032607.092825>
- Hsu PD, Scott DA, Weinstein JA, et al (2013) DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. *Nat Biotechnol* 2013 319 31:827–832. <https://doi.org/10.1038/nbt.2647>
- Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>
- Hu M, Qi J, Bi G, Zhou JM (2020) Bacterial Effectors Induce Oligomerization of Immune Receptor ZAR1 In Vivo. *Mol Plant* 13:793–801. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2020.03.004>
- Hu Y, Duan S, Zhang Y, et al (2016) Temporal Transcription Profiling of Sweet Orange in Response to PthA4-Mediated *Xanthomonas citri* subsp. *citri* Infection. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0201-R> 106:442–451. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0201-R>
- Hu Y, Zhang J, Jia H, et al (2014) Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E521–E529. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313271111>
- Huang L, Brooks S, Li W, et al (2009) Evolution of New Disease Specificity at a Simple Resistance Locus in a Crop–Weed Complex: Reconstitution of the Lr21 Gene in Wheat. *Genetics* 182:595–602. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.099614>
- Huang N, Angeles ER, Domingo J, et al (1997) Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker-assisted selection using RFLP and PCR. *Theor Appl Genet* 1997 953 95:313–320. <https://doi.org/10.1007/S001220050565>
- Huang R, Hui S, Zhang M, et al (2017) A Conserved Basal Transcription Factor Is Required for the Function of Diverse TAL Effectors in Multiple Plant Hosts. *Front Plant Sci* 0:1919. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2017.01919>
- Huang X, Kurata N, Wei X, et al (2012) A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature* 490:497–501. <https://doi.org/10.1038/nature11532>
- Huerta AI, Delorean EE, Bossa-Castro AM, et al (2021) Resistance and susceptibility QTL identified in a rice MAGIC population by screening with a minor-effect virulence factor from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Biotechnol J* 19:51–63. <https://doi.org/10.1111/pbi.13438>

- Huffaker A, Pearce G, Ryan CA (2006) An endogenous peptide signal in *Arabidopsis* activates components of the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10098–10103. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603727103>
- Hui S, Liu H, Zhang M, 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. <https://doi.org/10.1016/J.PLANTSCI.2019.04.004>
- Hui S, Shi Y, Tian J, et al (2019b) TALE carrying bacterial pathogens trap host nuclear import receptors for facilitation of infection of rice. *Mol Plant Pathol* 20:519–532. <https://doi.org/10.1111/mpp.12772>
- Hung CH, Wu HC, Tseng YH (2002) Mutation in the *Xanthomonas campestris* xanA Gene Required for Synthesis of Xanthan and Lipopolysaccharide Drastically Reduces the Efficiency of Bacteriophage ϕ L7 Adsorption. *Biochem Biophys Res Commun* 291:338–343. <https://doi.org/10.1006/BBRC.2002.6440>
- Hutin M, Pérez-Quintero AL, Lopez C, Szurek B (2015a) MorTAL KomBAT: the story of defense against TAL effectors through loss-of-susceptibility. *Front Plant Sci* 6:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00535>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015b) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Ichimura K, Shinozaki K, Tena G, et al (2002) Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci* 7:301–308. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02302-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02302-6)
- Iriti M, Faoro F (2009) Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. *Plant Signal Behav* 4:66–68. <https://doi.org/10.4161/psb.4.1.7408>
- Iriti M, Varoni EM (2014) Chitosan-induced antiviral activity and innate immunity in plants. *Environ Sci Pollut Res* 2014 224 22:2935–2944. <https://doi.org/10.1007/S11356-014-3571-7>
- Ishikawa K, Yamaguchi K, Sakamoto K, et al (2014) Bacterial effector modulation of host E3 ligase activity suppresses PAMP-triggered immunity in rice. *Nat Commun* 2014 51 5:1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms6430>
- Ishiyama, S. 1922. Studies of bacterial leaf blight of rice. *Rep. Imp. Agric. Stn. Konosu* 45233-261
- Iyer AS, McCouch SR (2007) The Rice Bacterial Blight Resistance Gene xa5 Encodes a Novel Form of Disease Resistance. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI200417121348> 17:1348–1354. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.12.1348>
- Jackson MT (1995) Protecting the heritage of rice biodiversity. *GeoJournal* 35:267–274. <https://doi.org/10.1007/BF00989134>
- Jacob F, Vernaldi S, Maekawa T (2013) Evolution and Conservation of Plant NLR Functions. *Front Immunol* 0:297. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2013.00297>

- Jacobs JM, Pesce C, Lefeuvre P, Koebnik R (2015) Comparative genomics of a cannabis pathogen reveals insight into the evolution of pathogenicity in *Xanthomonas*. *Front Plant Sci* 0:431. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00431>
- Jacquemin J, Bhatia D, Singh K, Wing RA (2013) The International Oryza Map Alignment Project: development of a genus-wide comparative genomics platform to help solve the 9 billion-people question. *Curr Opin Plant Biol* 16:147–156. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.014>
- Jacques M-A, Arlat M, Boulanger A, et al (2016) Using Ecology, Physiology, and Genomics to Understand Host Specificity in *Xanthomonas*. *Annu Rev Phytopathol* 54:163–187. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100147>
- Jaiswal P, Ni J, Yap I, et al (2006) Gramene: a bird's eye view of cereal genomes. *Nucleic Acids Res* 34:D717–D723. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj154>
- Jansen RC, Stam P (1994) High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136:1447–1455. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/136.4.1447>
- Jehle AK, Lipschis M, Albert M, et al (2013) The Receptor-Like Protein ReMAX of *Arabidopsis* Detects the Microbe-Associated Molecular Pattern eMax from *Xanthomonas*. *Plant Cell* 25:2330–2340. <https://doi.org/10.1105/TPC.113.110833>
- Jena KK, Kim SM, Suh JP, et al (2012) Identification of Cold-Tolerant Breeding Lines by Quantitative Trait Loci Associated with Cold Tolerance in Rice. *Crop Sci* 52:517–523. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI2010.12.0733>
- Jeworutzki E, Roelfsema MRG, Anschutz U, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2010.04155.X>
- Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Jia Y, McAdams SA, Bryan GT, et al (2000) Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. *EMBO J* 19:4004–4014. <https://doi.org/10.1093/EMBOJ/19.15.4004>
- Jiang GH, Xia ZH, Zhou YL, et al (2006) Testifying the rice bacterial blight resistance gene xa5 by genetic complementation and further analyzing xa5 (Xa5) in comparison with its homolog TFIIAγ1. *Mol Genet Genomics* 275:354–366. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0091-7>
- Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al (2012) A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science* (80-) 337:816–821. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1225829>

- Jisha V, Dampanaboina L, Vadassery J, et al (2015) Overexpression of an AP2/ERF Type Transcription Factor OsERE1BP1 Confers Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Rice. *PLoS One* 10:e0127831. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127831>
- Johnson WC, Menéndez C, Nodari R, et al (1996) Association of a seed weight factor with the phaseolin seed storage protein locus across genotypes, environments, and genomes in *Phaseolus-Vigna* spp.: Sax (1923) revisited. *J Agric Genomics* 2:1–19
- Jones DA, Thomas CM, Hammond-Kosack KE, et al (1994) Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science* (80-) 266:789–793. <https://doi.org/10.1126/science.7973631>
- Jones JDG, Dangl JL (2006) The plant immune system. *Nature* 444:323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Jones MP, Jeutong F, Tchatchoua J (1991) Diseases of rice in Cameroon. *Int Rice Res Newsl* 16:19–20
- Jones RK (1989) Identification of Low-Virulence Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* from Rice in the United States . *Phytopathology* 79:984. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-79-984>
- Joosten MHAJ, De Wit PJGM (1999) The tomato-*Cladosporium fulvum* interaction: A versatile experimental system to study plant-pathogen interactions. *Annu Rev Phytopathol* 37:335–367. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.37.1.335>
- Jung KH, An G, Ronald PC (2008) Towards a better bowl of rice: Assigning function to tens of thousands of rice genes. *Nat Rev Genet* 9:91–101. <https://doi.org/10.1038/nrg2286>
- Kachroo A, Robin GP (2013) Systemic signaling during plant defense. *Curr Opin Plant Biol* 16:527–533. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2013.06.019>
- Kadota Y, Liebrand TWH, Goto Y, et al (2019) Quantitative phosphoproteomic analysis reveals common regulatory mechanisms between effector- and PAMP-triggered immunity in plants. *New Phytol* 221:2160–2175. <https://doi.org/10.1111/NPH.15523>
- Kadota Y, Sklenar J, Derbyshire P, et al (2014) Direct Regulation of the NADPH Oxidase RBOHD by the PRR-Associated Kinase BIK1 during Plant Immunity. *Mol Cell* 54:43–55. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2014.02.021>
- Kao CH, Zeng ZB, Teasdale RD (1999) Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics* 152:1203–1216. <https://doi.org/10.1093/genetics/152.3.1203>
- Katzen F, Ferreiro DU, Oddo CG, et al (1998) *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* gum mutants: Effects on xanthan biosynthesis and plant virulence. *J Bacteriol* 180:1607–1617. <https://doi.org/10.1128/JB.180.7.1607-1617.1998>
- Kawahara Y, de la Bastide M, Hamilton JP, et al (2013) Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. *Rice* 6:4. <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-4>

- Kay S, Hahn S, Marois E, et al (2007) A Bacterial Effector Acts as a Plant Transcription Factor and Induces a Cell Size Regulator. *Science* (80-) 318:648–651. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1144956>
- Kemp BP, Horne J, Bryant A, Cooper RM (2004) *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* gumD gene is essential for EPS production and pathogenicity and enhances epiphytic survival on cassava (*Manihot esculenta*). *Physiol Mol Plant Pathol* 64:209–218. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2004.08.007>
- Kersey PJ, Allen JE, Armean I, et al (2016) Ensembl Genomes 2016: More genomes, more complexity. *Nucleic Acids Res* 44:D574–D580. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1209>
- Kim DS, Hwang BK (2014) An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (PAL1) in salicylic acid-dependent signalling of the defence response to microbial pathogens. *J Exp Bot* 65:2295–2306. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU109>
- Kim J-G, Li X, Roden JA, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.063123>
- Kim JG, Stork W, Mudgett MB (2013) *Xanthomonas* type III effector XopD desumoylates tomato transcription factor SlERF4 to suppress ethylene responses and promote pathogen growth. *Cell Host Microbe* 13:143–154. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.01.006>
- Kim JG, Taylor KW, Hotson A, et al (2008) XopD SUMO protease affects host transcription, promotes pathogen growth, and delays symptom development in *Xanthomonas*-infected tomato leaves. *Plant Cell* 20:1915–1929. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.058529>
- Kim S, Park J, Yeom S-I, et al (2017) New reference genome sequences of hot pepper reveal the massive evolution of plant disease-resistance genes by retroduplication. *Genome Biol* 2017 18:1–11. <https://doi.org/10.1186/S13059-017-1341-9>
- Kimura S, Hunter K, Vaahera L, et al (2020) CRK2 and C-terminal Phosphorylation of NADPH Oxidase RBOHD Regulate Reactive Oxygen Species Production in Arabidopsis. *Plant Cell* 32:1063–1080. <https://doi.org/10.1105/TPC.19.00525>
- Kim S-M, Suh J-P, Qin Y, et al (2015) Identification and fine-mapping of a new resistance gene, Xa40, conferring resistance to bacterial blight races in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 2015 128:1933–1943. <https://doi.org/10.1007/S00122-015-2557-2>
- Kim SM (2018) Identification of novel recessive gene xa44(t) conferring resistance to bacterial blight races in rice by QTL linkage analysis using an SNP chip. *Theor Appl Genet* 131:2733–2743. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3187-2>
- Kim SM, Reinke RF (2019) A novel resistance gene for bacterial blight in rice, Xa43(t) identified by GWAS, confirmed by QTL mapping using a bi-parental population. *PLoS One* 14:1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211775>
- Klauser T, Pohlner J, Meyer TF (1993) The secretion pathway of IgA protease-type proteins in gram-negative bacteria. *BioEssays* 15:799–805. <https://doi.org/10.1002/BIES.950151205>

- Koch B, Callaghan MM, Tellechea-Luzardo J, et al (2020) Protein interactions within and between two F-type type IV secretion systems. *Mol Microbiol* 114:823–838. <https://doi.org/10.1111/MMI.14582>
- Kong J, Wei M, Li G, et al (2018) The cucumber mosaic virus movement protein suppresses PAMP-triggered immune responses in *Arabidopsis* and tobacco. *Biochem Biophys Res Commun* 498:395–401. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2018.01.072>
- Kørner CJ, Klauser D, Niehl A, et al (2013) The Immunity Regulator BAK1 Contributes to Resistance Against Diverse RNA Viruses. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-06-13-0179-R> 26:1271–1280. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-13-0179-R>
- Krannich CT, Maletzki L, Kurowsky C, Horn R (2015) Network Candidate Genes in Breeding for Drought Tolerant Crops. *Int J Mol Sci* 2015, Vol 16, Pages 16378-16400 16:16378–16400. <https://doi.org/10.3390/IJMS160716378>
- Krasileva K V., Dahlbeck D, Staskawicz BJ (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. <https://doi.org/10.1105/TPC.110.075358>
- Krattinger SG, Keller B (2016) Molecular genetics and evolution of disease resistance in cereals. *New Phytol* 212:320–332. <https://doi.org/10.1111/NPH.14097>
- Krol E, Mentzel T, Chinchilla D, et al (2010) Perception of the *Arabidopsis* danger signal peptide 1 involves the pattern recognition receptor AtPEPR1 and its close homologue AtPEPR2. *J Biol Chem* 285:13471–13479. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.097394>
- Kumar R, Soni M, Mondal KK (2016) XopN-T3SS effector of *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* localizes to the plasma membrane and modulates ROS accumulation events during blight pathogenesis in pomegranate. *Microbiol Res* 193:111–120. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.10.001>
- Kunze G, Zipfel C, Robatzek S, et al (2004) The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in *Arabidopsis* plants. *Plant Cell* 16:3496–3507. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.026765>
- Kurata N, Yamazaki Y (2006) Oryzabase. An integrated biological and genome information database for rice. *Plant Physiol* 140:12–17. <https://doi.org/10.1104/pp.105.063008>
- Laflamme B, Dillon MM, Martel A, et al (2020) The pan-genome effector-triggered immunity landscape of a host-pathogen interaction. *Science* (80-) 367:763–768. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAX4079>
- Lambert K, Bekal S (2002) Introduction to Plant-Parasitic Nematodes. *Plant Heal Instr.* <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2002-1218-01>
- Lander ES, Botstein S (1989) Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121:185. <https://doi.org/10.1093/genetics/121.1.185>

- Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>
- Le Roux C, Huet G, Jauneau A, et al (2015) A Receptor Pair with an Integrated Decoy Converts Pathogen Disabling of Transcription Factors to Immunity. *Cell* 161:1074–1088. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.04.025>
- Lebar T, Jerala R (2016) Benchmarking of TALE- and CRISPR/dCas9-Based Transcriptional Regulators in Mammalian Cells for the Construction of Synthetic Genetic Circuits. *ACS Synth Biol* 5:1050–1058. <https://doi.org/10.1021/ACSSYNBIO.5B00259>
- Lee D, Lal NK, Lin Z-JD, et al (2020) Regulation of reactive oxygen species during plant immunity through phosphorylation and ubiquitination of RBOHD. *Nat Commun* 2020 11:1–16. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15601-5>
- Lee HA, Lee HY, Seo E, et al (2017) Current understandings of plant nonhost resistance. *Mol Plant-Microbe Interact* 30:5–15. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-16-0213-CR>
- Lee KS, Rasabandith S, Angeles ER, Khush GS (2003) Inheritance of resistance to bacterial blight in 21 cultivars of rice. *Phytopathology* 93:147–152. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.2.147>
- Lee SW, Choi SH, Han SS, et al (2007) Distribution of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Strains Virulent to Xa21 in Korea. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO19998910928> 89:928–933. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.10.928>
- Leister D (2004) Tandem and segmental gene duplication and recombination in the evolution of plant disease resistance genes. *Trends Genet* 20:116–122. <https://doi.org/10.1016/J.TIG.2004.01.007>
- Levine A, Tenhaken R, Dixon R, Lamb C (1994) H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79:583–593. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90544-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90544-4)
- Lewis DH (1973) CONCEPTS IN FUNGAL NUTRITION AND THE ORIGIN OF BIOTROPHY. *Biol Rev* 48:261–277. <https://doi.org/10.1111/J.1469-185X.1973.TB00982.X>
- Lewis JD, Lee AH-Y, Hassan JA, 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* 110:18722–18727. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1315520110>
- Li F, Pignatta D, Bendix C, et al (2012) MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:1790–1795. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118282109>
- Li L, Li M, Yu L, et al (2014) The FLS2-Associated Kinase BIK1 Directly Phosphorylates the NADPH Oxidase RbohD to Control Plant Immunity. *Cell Host Microbe* 15:329–338. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2014.02.009>
- Li X, Si W, Qin Q, et al (2018) Deciphering evolutionary dynamics of SWEET genes in diverse plant lineages. *Sci Reports* 2018 8:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31589-x>

- Li YG, Hu B, Christie PJ (2019) Biological and Structural Diversity of Type IV Secretion Systems. *Microbiol Spectr* 7:. <https://doi.org/10.1128/MICROBIOLSPEC.PSIB-0012-2018>
- Liebrand TWH, van den Burg HA, Joosten MHAJ (2014) Two for all: Receptor-associated kinases SOBIR1 and BAK1. *Trends Plant Sci.* 19:123–132
- Lin Y, Fine EJ, Zheng Z, et al (2014) SAPTA: a new design tool for improving TALE nuclease activity. *Nucleic Acids Res* 42:e47–e47. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1363>
- Linares OF (2002) African rice (*Oryza glaberrima*): History and future potential. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:16360–16365. <https://doi.org/10.1073/pnas.252604599>
- Lindgren PB, Peet RC, Panopoulos NJ (1986) Gene cluster of *Pseudomonas syringae* pv. “phaseolicola” controls pathogenicity of bean plants and hypersensitivity on nonhost plants. *J Bacteriol* 168:512–522. <https://doi.org/10.1128/JB.168.2.512-522.1986>
- Liu B, Li JF, Ao Y, et al (2012a) Lysin motif-containing proteins LYP4 and LYP6 play dual roles in peptidoglycan and chitin perception in rice innate immunity. *Plant Cell* 24:3406–3419. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.102475>
- Liu C, Wu Y, Wang X (2012b) BZIP transcription factor OsbZIP52/RISBZ5: A potential negative regulator of cold and drought stress response in rice. *Planta* 235:1157–1169. <https://doi.org/10.1007/S00425-011-1564-Z/FIGURES/6>
- Liu J-Z, Horstman HD, Braun E, et al (2011a) Soybean Homologs of MPK4 Negatively Regulate Defense Responses and Positively Regulate Growth and Development. *Plant Physiol* 157:1363–1378. <https://doi.org/10.1104/PP.111.185686>
- Liu J, Elmore JM, Lin ZJD, Coaker G (2011b) A Receptor-like Cytoplasmic Kinase Phosphorylates the Host Target RIN4, Leading to the Activation of a Plant Innate Immune Receptor. *Cell Host Microbe* 9:137–146. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2011.01.010>
- Liu J, Zhang T, Jia J, Sun J (2016) The Wheat Mediator Subunit TaMED25 Interacts with the Transcription Factor TaEIL1 to Negatively Regulate Disease Resistance against Powdery Mildew. *Plant Physiol* 170:1799–1816. <https://doi.org/10.1104/PP.15.01784>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011c) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Liu W, Wang G-L (2016) Plant innate immunity in rice: a defense against pathogen infection. *Natl Sci Rev* 3:295–308. <https://doi.org/10.1093/NSR/NWW015>
- Liu Y, Zhang S (2004) Phosphorylation of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Synthase by MPK6, a Stress-Responsive Mitogen-Activated Protein Kinase, Induces Ethylene Biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 16:3386–3399. <https://doi.org/10.1105/TPC.104.026609>

- Long J, Song C, Yan F, et al (2018) Non-TAL effectors from *xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* suppress peptidoglycan-triggered MAPK activation in rice. *Front Plant Sci* 871:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01857>
- Lu H, Patil P, Sluys M-A Van, et al (2008) Acquisition and Evolution of Plant Pathogenesis–Associated Gene Clusters and Candidate Determinants of Tissue-Specificity in *Xanthomonas*. *PLoS One* 3:e3828. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0003828>
- Lu X, Kracher B, Saur IML, et al (2016) Allelic barley MLA immune receptors recognize sequence-unrelated avirulence effectors of the powdery mildew pathogen. *Proc Natl Acad Sci* 113:E6486–E6495. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1612947113>
- Lund ST, Stall RE, Klee HJ (1998) Ethylene Regulates the Susceptible Response to Pathogen Infection in Tomato. *Plant Cell* 10:371–382. <https://doi.org/10.1105/TPC.10.3.371>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- M’Barek S Ben, Karisto P, Fakhfakh M, et al (2019) Improved control of *Septoria tritici* blotch in durum wheat using cultivar mixtures. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/664078>
- Ma S, Lapin D, Liu L, et al (2020) Direct pathogen-induced assembly of an NLR immune receptor complex to form a holoenzyme. *Science* (80-) 370:. <https://doi.org/10.1126/science.abe3069>
- Ma Y, Guo H, Hu L, et al (2018) Distinct modes of derepression of an *Arabidopsis* immune receptor complex by two different bacterial effectors. *Proc Natl Acad Sci* 115:10218–10227. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1811858115>
- Mackey D, Belkhadir Y, Alonso JM, et al (2003) *Arabidopsis* RIN4 Is a Target of the Type III Virulence Effector AvrRpt2 and Modulates RPS2-Mediated Resistance. *Cell* 112:379–389. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00040-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00040-0)
- Mackill DJ, Salam MA, Wang Y, Tanksley SD (1993) A major photoperiod-sensitivity gene tagged with RFLP and isozyme markers in rice. *Theor Appl Genet* 85:536–540
- Mago R, Zhang P, Vautrin S, et al (2015) The wheat Sr50 gene reveals rich diversity at a cereal disease resistance locus. *Nat Plants* 2015 112 1:1–3. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.186>
- Majer C, Hochholdinger F (2011) Defining the boundaries: structure and function of LOB domain proteins. *Trends Plant Sci* 16:47–52. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2010.09.009>
- Mak AN-S, Bradley P, Cernadas RA, et al (2012) The Crystal Structure of TAL Effector PthXo1 Bound to Its DNA Target. *Science* (80-) 335:716–719. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1216211>
- Manck-Götzenberger J, Requena N (2016) Arbuscular mycorrhiza Symbiosis Induces a Major Transcriptional Reprogramming of the Potato SWEET Sugar Transporter Family. *Front Plant Sci* 0:487. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2016.00487>

- Manser PD (1984) Rice pests in the Gabon. <https://www.cabi.org/isc/abstract/19850521097>. Accessed 14 Aug 2021
- Mansfield J, Genin S, Magori S, et al (2012) Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 13:614–629. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2012.00804.X>
- Maqbool A, Saitoh H, Franceschetti M, et al (2015) Structural basis of pathogen recognition by an integrated HMA domain in a plant NLR immune receptor. *Elife* 4:. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.08709>
- Marois E, Van Den Ackerveken G, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.7.637>
- Martin R, Qi T, Zhang H, et al (2020) Structure of the activated ROQ1 resistosome directly recognizing the pathogen effector XopQ. *Science* (80-) 370:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABD9993>
- Matsuoka M, Fukayama H, Ku MSB, Miyao M (2001) High-level expression of 4 photosynthetic genes in transgenic rice. 439–447. https://doi.org/10.1142/9789812814296_0029
- McDonald BA, Linde C (2002a) Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:349–379
- McDonald BA, Linde C (2002b) The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica* 2002 1242 124:163–180. <https://doi.org/10.1023/A:1015678432355>
- McNally KL, Childs KL, Bohnert R, et al (2009) Genomewide SNP variation reveals relationships among landraces and modern varieties of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:12273–12278. <https://doi.org/10.1073/pnas.0900992106>
- Meckler JF, Bhakta MS, Kim M-S, et al (2013) Quantitative analysis of TALE–DNA interactions suggests polarity effects. *Nucleic Acids Res* 41:4118–4128. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT085>
- Medina CA, Reyes PA, Trujillo CA, et al (2018) The role of type III effectors from *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in virulence and suppression of plant immunity. *Mol Plant Pathol* 19:593–606. <https://doi.org/10.1111/mpp.12545>
- Meng X, Zhang S (2013) MAPK cascades in plant disease resistance signaling. *Annu Rev Phytopathol* 51:245–266. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082712-102314>
- Mesarich CH, Bowen JK, Hamiaux C, Templeton MD (2015) Repeat-containing protein effectors of plant-associated organisms. *Front Plant Sci* 0:872. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00872>
- Mew TW (1992) Changes in Race Frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Response to Rice Cultivars Planted in the Philippines . *Plant Dis* 76:1029. <https://doi.org/10.1094/PD-76-1029>

- Mew TW (1989) An overview of the world bacterial blight situation. https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=G_L8pPRZmjwC&oi=fnd&pg=PA7&dq=Mew+TW.+1989.+An+overview+of+the+world+bacterial+blight+situation.+Bac-+terial+blight+of+rice,+p+7-12.+In+Bacterial+blight+of+rice:+proceedings+of+the+International+Workshop+on+Bacte. Accessed 14 Aug 2021
- Mew TW (1993) Focus on Bacterial Blight of Rice. *Plant Dis* 77:5. <https://doi.org/10.1094/PD-77-0005>
- Meyer RS, Choi JY, Sanches M, et al (2016) Domestication history and geographical adaptation inferred from a SNP map of African rice. *Nat Genet* 48:1083–1088. <https://doi.org/10.1038/ng.3633>
- Miller JC, Tan S, Qiao G, et al (2010) A TALE nuclease architecture for efficient genome editing. *Nat Biotechnol* 29:143–148. <https://doi.org/10.1038/nbt.1755>
- Miyanari Y, Ziegler-Birling C, Torres-Padilla M-E (2013) Live visualization of chromatin dynamics with fluorescent TALEs. *Nat Struct Mol Biol* 20:1321–1324. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2680>
- Mizukami T, Wakimoto S (1969) Epidemiology and Control of Bacterial Leaf Blight of Rice. *Annu Rev Phytopathol* 7:51–72. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.07.090169.000411>
- Mizuno H, Kasuga S, Kawahigashi H (2016) The sorghum SWEET gene family: stem sucrose accumulation as revealed through transcriptome profiling. *Biotechnol Biofuels* 9:1–12. <https://doi.org/10.1186/S13068-016-0546-6>
- Mondal KK, Soni M, Verma G, et al (2020) *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* depends on multiple non-TAL (Xop) T3SS effectors for its coveted growth inside the pomegranate plant through repressing the immune responses during bacterial blight development. *Microbiol Res* 240:126560. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126560>
- Mondragon-Palomino M, Gaut BS (2005) Gene Conversion and the Evolution of Three Leucine-Rich Repeat Gene Families in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Biol Evol* 22:2444–2456. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSI241>
- Moon JY, Park JM (2016) Cross-Talk in Viral Defense Signaling in Plants. *Front Microbiol* 7:2068. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.02068>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Mundt CC (2002) Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:381–410
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.59032607092911> 59:651–681. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.ARPLANT.59.032607.092911>

- Natarajkumar P, Mishra BK (2008) Molecular mapping of a novel bacterial blight resistance gene from *Oryza nivara* Mathematical models on cyber attack in wired and wireless network View project bio prospecting of genes and allele mining for abiotic stress tolerance View project
- Neff KL, Argue DP, Ma AC, et al (2013) Mojo Hand, a TALEN design tool for genome editing applications. *BMC Bioinforma* 2013 141 14:1–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-1>
- Ngou BPM, Ahn H-K, Ding P, et al (2020) Estradiol-inducible AvrRps4 expression reveals distinct properties of TIR-NLR-mediated effector-triggered immunity. *J Exp Bot* 71:2186–2197. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERZ571>
- Ngou BPM, Ahn H-K, Ding P, Jones JDG (2021) Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors. *Nat* 2021 5927852 592:110–115. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03315-7>
- Nguyen VN (2003) Recent development in rice production in Sub-Sahara Africa and the dissemination of NERICA. *FAO-Japanese Nihon Univ Symp Food Secur Africa*, Nihon Univ Fujisawa, Japan, 2003
- Nicaise V, Candresse T (2017) Plum pox virus capsid protein suppresses plant pathogen-associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity. *Mol Plant Pathol* 18:878–886. <https://doi.org/10.1111/MPP.12447>
- Niehl A, Wyrsh I, Boller T, Heinlein M (2016) Double-stranded RNAs induce a pattern-triggered immune signaling pathway in plants. *New Phytol* 211:1008–1019. <https://doi.org/10.1111/nph.13944>
- Niño-Liu DO, Ronald PC, Bogdanove AJ (2006) *Xanthomonas oryzae* pathovars: Model pathogens of a model crop. *Mol Plant Pathol* 7:303–324. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x>
- Niroula RK, Pucciariello C, Ho VT, et al (2012) SUB1A-dependent and -independent mechanisms are involved in the flooding tolerance of wild rice species. *Plant J* 72:282–293. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2012.05078.X>
- Noda T, Yamamoto T (2008) Reaction of *Leersia* grasses to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* collected from Japan and Asian countries. *J Gen Plant Pathol* 2008 745 74:395–401. <https://doi.org/10.1007/S10327-008-0118-0>
- Nomura H, Komori T, Uemura S, et al (2012) Chloroplast-mediated activation of plant immune signalling in *Arabidopsis*. *Nat Commun* 2012 31 3:1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms1926>
- Nühse TS, Bottrill AR, Jones AME, Peck SC (2007) Quantitative phosphoproteomic analysis of plasma membrane proteins reveals regulatory mechanisms of plant innate immune responses. *Plant J* 51:931–940. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2007.03192.X>
- Nühse TS, Peck SC, Hirt H, Boller T (2000) Microbial Elicitors Induce Activation and Dual Phosphorylation of the *Arabidopsis thaliana* MAPK 6 *. *J Biol Chem* 275:7521–7526. <https://doi.org/10.1074/JBC.275.11.7521>

- Ochiai H, INOUE Y, TAKEYA M, et al (2005) Genome Sequence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Suggests Contribution of Large Numbers of Effector Genes and Insertion Sequences to Its Race Diversity. *Japan Agric Res Q JARQ* 39:275–287. <https://doi.org/10.6090/JARQ.39.275>
- Ogawa T (1993) Methods and Strategy for Monitoring Race Distribution and Identification of Resistance Genes to Bacterial Leaf Blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) in Rice. *JARQ* 27:71–80
- Ogawa T (1988) Near-isogenic lines as international differentials for resistance to bacterial blight of rice. *Rice Genet Newsl* 5:106–107
- Ogawa T, Busto GA, Tabien JRE, et al (1991) Grouping of Rice Cultivars based on Reaction Pattern to Philippine Races of Bacterial Blight Pathogen (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*). *Japanese J Breed* 41:109–119. <https://doi.org/10.1270/JSBBS1951.41.109>
- Ojanen T, Helander IM, Haahtela K, et al (1993) Outer membrane proteins and lipopolysaccharides in pathovars of *Xanthomonas campestris*. *Appl Environ Microbiol* 59:4143–4151. <https://doi.org/10.1128/AEM.59.12.4143-4151.1993>
- Orjuela J, Sabot F, Chéron S, et al (2014) An extensive analysis of the African rice genetic diversity through a global genotyping. *Theor Appl Genet* 127:2211–2223. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2374-z>
- Osman HA, Ameen HH, Mohamed M, Elkelany US (2020) Efficacy of integrated microorganisms in controlling root-knot nematode *Meloidogyne javanica* infecting peanut plants under field conditions. *Bull Natl Res Cent* 2020 441 44:1–10. <https://doi.org/10.1186/S42269-020-00366-0>
- Ou SH (1985) *Rice Diseases* - Shu Huang Ou, Commonwealth Mycological Institute (Great Britain) - Google Books. [https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=-k3mewv9nMoC&oi=fnd&pg=PR1&dq=Ou,+S.H.+\(1972\)+Rice+Diseases.+Kew,+Surrey:+Commonwealth+Mycological+Institute&ots=Zmj_ryvifh&sig=_IBFY6CEqaO1J3ryoPRe7Ui9zhQ#v=onepage&q&f=false](https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=-k3mewv9nMoC&oi=fnd&pg=PR1&dq=Ou,+S.H.+(1972)+Rice+Diseases.+Kew,+Surrey:+Commonwealth+Mycological+Institute&ots=Zmj_ryvifh&sig=_IBFY6CEqaO1J3ryoPRe7Ui9zhQ#v=onepage&q&f=false). Accessed 14 Aug 2021
- Pallas V, García JA (2011) How do plant viruses induce disease? Interactions and interference with host components. *J Gen Virol* 92:2691–2705. <https://doi.org/10.1099/VIR.0.034603-0>
- Palmgren MG, Edenbrandt AK, Vedel SE, et al (2015) Are we ready for back-to-nature crop breeding? *Trends Plant Sci.* 20:155–164
- Pandey MK, Shobha Rani N, Sundaram RM, et al (2012) Improvement of two traditional Basmati rice varieties for bacterial blight resistance and plant stature through morphological and marker-assisted selection. *Mol Breed* 2012 311 31:239–246. <https://doi.org/10.1007/S11032-012-9779-7>
- Pandey SP, Somssich IE (2009) The Role of WRKY Transcription Factors in Plant Immunity. *Plant Physiol* 150:1648–1655. <https://doi.org/10.1104/PP.109.138990>

- Park JM, Park C-J, Lee S-B, et al (2001) Overexpression of the Tobacco Tsi1 Gene Encoding an EREBP/AP2-Type Transcription Factor Enhances Resistance against Pathogen Attack and Osmotic Stress in Tobacco. *Plant Cell* 13:1035–1046. <https://doi.org/10.1105/TPC.13.5.1035>
- Pedley KF, Martin GB (2005) Role of mitogen-activated protein kinases in plant immunity. *Curr Opin Plant Biol* 8:541–547. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2005.07.006>
- Pérez-Quintero AL, Lamy L, L.Gordon J, et al (2015) QueTAL: A suite of tools to classify and compare TAL effectors functionally and phylogenetically. *Front Plant Sci* 6:1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00545>
- Pérez-Quintero AL, Rodriguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Perez-Quintero AL, Szurek B (2019) A Decade Decoded: Spies and Hackers in the History of TAL Effectors Research. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100026> 57:459–481. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082718-100026>
- Petpisit V, Khush GS, Kauffman HE (1977) Inheritance of Resistance to Bacterial Blight in Rice1. *Crop Sci* 17:551–554. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI1977.0011183X001700040018X>
- Pieterse CMJ, Leon-Reyes A, Van der Ent S, Van Wees SCM (2009) Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nat Chem Biol* 2009 55 5:308–316. <https://doi.org/10.1038/nchembio.164>
- Poland JA, Balint-Kurti PJ, Wisser RJ, et al (2009) Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci.* 14:21–29
- Ponciano G, Webb K, Bai J, et al (2004) Molecular characterization of the *avrXa7* locus from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* field isolates. *Physiol Mol Plant Pathol* 64:145–153. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.08.001>
- Popov G, Fraiture M, Brunner F, Sessa G (2016) Multiple *Xanthomonas euvesicatoria* Type III Effectors Inhibit *flg22*-Triggered Immunity. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R> 29:651–660. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R>
- Portères R (1962) Berceaux Agricoles Primaires Sur Le Continent Africain. *J Afr Hist* 3:195–210. <https://doi.org/10.1017/S0021853700003030>
- Postma J, Liebrand TWH, Bi G, et al (2016) *Avr4* promotes Cf-4 receptor-like protein association with the BAK1/SERK3 receptor-like kinase to initiate receptor endocytosis and plant immunity. *New Phytol* 210:627–642. <https://doi.org/10.1111/NPH.13802>
- Potrykus (2003) *Rice Science: Innovations and Impact for Livelihood* - Google Books. https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=Bkzs5PwmRFMC&oi=fnd&pg=PA379&dq=potrykus+2003+Golden+rice&ots=BRAYjmyX4O&sig=Qcxnu2ozNPO_CpBCzdIjhma20FQ&redir_esc=y#v=onepage&q=potrykus+2003+Golden+rice&f=false. Accessed 12 Aug 2021

- Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698. <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>
- Poulin L, Raveloson H, Sester M, et al (2014) Confirmation of bacterial leaf streak caused by *xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* on rice in Madagascar. *Plant Dis* 98:1423. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-14-0132-PDN>
- Pruitt RN, Schwessinger B, Joe A, et al (2015) The rice immune receptor XA21 recognizes a tyrosine-sulfated protein from a Gram-negative bacterium. *Sci Adv* 1:e1500245. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500245>
- Purugganan MD (2019) Evolutionary Insights into the Nature of Plant Domestication. *Curr Biol* 29:R705–R714. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2019.05.053>
- Qi D, DeYoung BJ, Innes RW (2012) Structure-Function Analysis of the Coiled-Coil and Leucine-Rich Repeat Domains of the RPS5 Disease Resistance Protein. *Plant Physiol* 158:1819–1832. <https://doi.org/10.1104/PP.112.194035>
- Qiu D, Xiao J, Ding X, et al (2007) OsWRKY13 mediates rice disease resistance by regulating defense-related genes in salicylate- and jasmonate-dependent signaling. *Mol Plant Microbe Interact* 20:492–499. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0492>
- Quibod IL, Atieza-Grande G, Oreiro EG, et al (2020) The Green Revolution shaped the population structure of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *ISME J* 14:492–505. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0545-2>
- Quibod IL, Perez-Quintero A, Booher NJ, et al (2016) Effector Diversification Contributes to *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* Phenotypic Adaptation in a Semi-Isolated Environment. *Sci Rep* 6:1–11. <https://doi.org/10.1038/srep34137>
- Raghavan C, Mauleon R, Lacorte V, et al (2017) Approaches in Characterizing Genetic Structure and Mapping in a Rice Multiparental Population. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 7:1721–1730. <https://doi.org/10.1534/G3.117.042101>
- Rajeshwari R, Sonti R V. (2000) Stationary-phase variation due to transposition of novel insertion elements in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J Bacteriol* 182:4797–4802. <https://doi.org/10.1128/JB.182.17.4797-4802.2000>
- Ramakrishnan SM, Sidhu JS, Ali S, et al (2019) Molecular characterization of bacterial leaf streak resistance in hard winter wheat. *PeerJ* 2019:. <https://doi.org/10.7717/peerj.7276>
- Ranf S, Eschen-Lippold L, Pecher P, et al (2011) Interplay between calcium signalling and early signalling elements during defence responses to microbe- or damage-associated molecular patterns. *Plant J* 68:100–113. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2011.04671.X>
- Ray SK, Rajeshwari R, Sharma Y, Sonti R V. (2002) A high-molecular-weight outer membrane protein of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* exhibits similarity to non-fimbrial adhesins of

animal pathogenic bacteria and is required for optimum virulence. *Mol Microbiol* 46:637–647. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2958.2002.03188.X>

- Rayapuram N, Bonhomme L, Bigeard J, et al (2014) Identification of Novel PAMP-Triggered Phosphorylation and Dephosphorylation Events in *Arabidopsis thaliana* by Quantitative Phosphoproteomic Analysis. *J Proteome Res* 13:2137–2151. <https://doi.org/10.1021/PR401268V>
- Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020a) Genome assembly and characterization of a complex zFBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zFBED-NLR gene-containing Dis Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678. <https://doi.org/10.1101/675678>
- Read AC, Hutin M, Moscou MJ, et al (2020b) Cloning of the rice Xo1 resistance gene and interaction of the Xo1 protein with the defense-suppressing *Xanthomonas* effector Tal2h. *Mol Plant-Microbe Interact* 33:1189–1195. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-20-0131-SC>
- Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516>
- Reckhaus PM (1983) Occurrence of Bacterial Blight of Rice in Niger, West Africa. *Plant Dis* 67:1039. <https://doi.org/10.1094/PD-67-1039>
- Redditt TJ, Chung E-H, Karimi HZ, et al (2019) AvrRpm1 Functions as an ADP-Ribosyl Transferase to Modify NOI Domain-Containing Proteins, Including *Arabidopsis* and Soybean RPM1-Interacting Protein4. *Plant Cell* 31:2664–2681. <https://doi.org/10.1105/TPC.19.00020>
- Regenmortel MHV van, Fauquet CM, Bishop DHL, et al (2000) Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Virus Taxon Classif Nomencl viruses Seventh Rep Int Comm Taxon Viruses*
- Rigano LA, Siciliano F, Enrique R, et al (2007) Biofilm Formation, Epiphytic Fitness, and Canker Development in *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-20-10-1222> 20:1222–1230. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-10-1222>
- Rivas S, Thomas CM (2005) Molecular interactions between tomato and the leaf mold pathogen *Cladosporium fulvum*. *Annu Rev Phytopathol* 43:395–436. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.140224>
- Robatzek S, Bittel P, Chinchilla D, 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. <https://doi.org/10.1007/s11103-007-9173-8>
- Rodriguez-R LM, Konstantinidis KT (2016) The enveomics collection: a toolbox for specialized analyses of microbial genomes and metagenomes. <https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.1900v1>

- Romagosa I, Prada D, Moralejo MA, et al (2001) Dormancy, ABA content and sensitivity of a barley mutant to ABA application during seed development and after ripening. *J Exp Bot* 52:1499–1506. <https://doi.org/10.1093/JEXBOT/52.360.1499>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Römer P, Recht S, Strauß T, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03217.X>
- Roux F, Voisin D, Badet T, et al (2014) Resistance to phytopathogens e tutti quanti: Placing plant quantitative disease resistance on the map. *Mol Plant Pathol* 15:427–432. <https://doi.org/10.1111/MPP.12138>
- Ruh M, Briand M, Bonneau S, et al (2017) *Xanthomonas* adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. *BMC Genomics* 18:670. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4087-6>
- Ryba-White M, Notteghem JL, Leach J. (1995) Comparison of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains from Africa, North America, and Asia by restriction fragment length polymorphism analysis. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=QR9500053>. Accessed 14 Aug 2021
- Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, et al (2003) Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theor Appl Genet* 106:794–803. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1088-9>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 91 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Sano Y (1990) The genic nature of gamete eliminator in rice. *Genetics* 125:183–191. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/125.1.183>
- Sarris PF, Duxbury Z, Huh SU, et al (2015) A Plant Immune Receptor Detects Pathogen Effectors that Target WRKY Transcription Factors. *Cell* 161:1089–1100. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.04.024>
- Sasaki T, Burr B (2000) International Rice Genome Sequencing Project: The effort to completely sequence the rice genome. *Curr Opin Plant Biol* 3:138–142. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)00047-3](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)00047-3)
- Sax K (1923) The Association of Size Differences with Seed-Coat Pattern and Pigmentation in *PHASEOLUS VULGARIS*. *Genetics* 8:552

- Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol* 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>
- Schirawski J, Perlin MH (2018) Plant–microbe interaction 2017—the good, the bad and the diverse. *Int J Mol Sci* 19:. <https://doi.org/10.3390/ijms19051374>
- Schornack S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>
- Schornack S, Peter K, Bonas U, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-1215>
- Schultink A, Qi T, Bally J, Staskawicz B (2019) Using forward genetics in *Nicotiana benthamiana* to uncover the immune signaling pathway mediating recognition of the *Xanthomonas perforans* effector XopJ4. *New Phytol* 221:1001–1009. <https://doi.org/10.1111/NPH.15411>
- Schwartz AR, Morbitzer R, Lahaye T, Staskawicz BJ (2017) TALE-induced bHLH transcription factors that activate a pectate lyase contribute to water soaking in bacterial spot of tomato. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114:E897–E903. <https://doi.org/10.1073/pnas.1620407114>
- Semon M, Nielsen R, Jones MP, McCouch SR (2005) The Population Structure of African Cultivated Rice *Oryza glaberrima* (Steud.). *Genetics* 169:1639–1647. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.033175>
- Serra H, Choi K, Zhao X, et al (2018) Interhomolog polymorphism shapes meiotic crossover within RAC1 and RPP13 disease resistance genes. *bioRxiv* 290478. <https://doi.org/10.1101/290478>
- Serrano M, Coluccia F, Torres M, et al (2014) The cuticle and plant defense to pathogens. *Front Plant Sci* 0:274. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00274>
- Seto D, Koulena N, Lo T, et al (2017) Expanded type III effector recognition by the ZAR1 NLR protein using ZED1-related kinases. *Nat Plants* 2017 34 3:1–4. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.27>
- Shao F, Golstein C, Ade J, et al (2003) Cleavage of Arabidopsis PBS1 by a Bacterial Type III Effector. *Science* (80-) 301:1230–1233. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1085671>
- Shen X, LIU H, YUAN B, et al (2011) OsEDR1 negatively regulates rice bacterial resistance via activation of ethylene biosynthesis. *Plant Cell Environ* 34:179–191. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2010.02219.X>
- Shibata Y, Kawakita K, Takemoto D (2010) Age-Related Resistance of *Nicotiana benthamiana* Against Hemibiotrophic Pathogen *Phytophthora infestans* Requires Both Ethylene- and Salicylic Acid–Mediated Signaling Pathways. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-23-9-1130> 23:1130–1142. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-9-1130>

- Shimizu T, Nakano T, Takamizawa D, et al (2010) Two LysM receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice. *Plant J* 64:204–214. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04324.x>
- Shivaprasad P V., Chen HM, Patel K, et al (2012) A microRNA superfamily regulates nucleotide binding site-leucine-rich repeats and other mRNAs. *Plant Cell* 24:859–874. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.095380>
- Si M, Wang Y, Zhang B, et al (2017a) The Type VI Secretion System Engages a Redox-Regulated Dual-Functional Heme Transporter for Zinc Acquisition. *Cell Rep* 20:949–959. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2017.06.081>
- Si M, Zhao C, Burkinshaw B, et al (2017b) Manganese scavenging and oxidative stress response mediated by type VI secretion system in *Burkholderia thailandensis*. *Proc Natl Acad Sci* 114:E2233–E2242. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1614902114>
- Sidhu GS, Khush GS, Mew TW (1978) Genetic analysis of bacterial blight resistance in seventy-four cultivars of rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 1978 533 53:105–111. <https://doi.org/10.1007/BF00272687>
- Sigee DC (1993) *Bacterial Plant Pathology*. *Bact Plant Pathol*. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511525476>
- Silva L da C e, Cruz CD, Moreira MA, Barros EG de (2007) Simulation of population size and genome saturation level for genetic mapping of recombinant inbred lines (RILs). *Genet Mol Biol* 30:1101–1108. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572007000600013>
- Simpson AJG, Reinach FC, Arruda P, et al (2000) The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Nat* 2000 4066792 406:151–157. <https://doi.org/10.1038/35018003>
- Singh DV, Banerjee AK, Kishun R, Abidi AB (1980) Effect of bacterial leaf streak on the quantitative and qualitative characters of rice. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301294453>. Accessed 14 Aug 2021
- Slootweg EJ, Spiridon LN, Roosien J, et al (2013) Structural Determinants at the Interface of the ARC2 and Leucine-Rich Repeat Domains Control the Activation of the Plant Immune Receptors Rx1 and Gpa2. *Plant Physiol* 162:1510–1528. <https://doi.org/10.1104/PP.113.218842>
- Soller M, Brody T, Genizi A (1976) On the power of experimental designs for the detection of linkage between marker loci and quantitative loci in crosses between inbred lines. *Theor Appl Genet* 47:35–39. <https://doi.org/10.1007/BF00277402>
- Song C, Yang B (2010) Mutagenesis of 18 type III effectors reveals virulence function of XopZPXO99in *xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant-Microbe Interact* 23:893–902. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-7-0893>
- Soreng RJ, Peterson PM, Romaschenko K, et al (2015) A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). *J Syst Evol* 53:117–137. <https://doi.org/10.1111/jse.12150>

- Spoel SH, Dong X (2012) How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nat Rev Immunol* 2012 122 12:89–100. <https://doi.org/10.1038/nri3141>
- Spoel SH, Johnson JS, Dong X (2007) Regulation of tradeoffs between plant defenses against pathogens with different lifestyles. *Proc Natl Acad Sci* 104:18842–18847. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0708139104>
- St.clair DA (2010) Quantitative disease resistance and quantitative resistance loci in breeding. *Annu Rev Phytopathol* 48:247–268. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081904>
- Stam R, Scheikl D, Tellier A (2016) Pooled Enrichment Sequencing Identifies Diversity and Evolutionary Pressures at NLR Resistance Genes within a Wild Tomato Population. *Genome Biol Evol* 8:1501–1515. <https://doi.org/10.1093/GBE/EVW094>
- Stam R, Silva-Arias GA, Tellier A (2019) Subsets of NLR genes show differential signatures of adaptation during colonization of new habitats. *New Phytol* 224:367–379. <https://doi.org/10.1111/NPH.16017>
- Starr MP (1981) The Genus *Xanthomonas*. *The Prokaryotes* 742–763. https://doi.org/10.1007/978-3-662-13187-9_62
- Stein JC, Yu Y, Copetti D, et al (2018) Genomes of 13 domesticated and wild rice relatives highlight genetic conservation, turnover and innovation across the genus *Oryza*. *Nat Genet* 50:285–296. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0040-0>
- Stergiopoulos I, De Wit PJGM (2009) Fungal Effector Proteins. <http://dx.doi.org/101146/annurev.phyto112408132637> 47:233–263. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.112408.132637>
- Stingl K, Müller S, Scheidgen-Kleyboldt G, et al (2010) Composite system mediates two-step DNA uptake into *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci* 107:1184–1189. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0909955107>
- Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW (2002) Biofilms as Complex Differentiated Communities. <http://dx.doi.org/101146/annurev.micro56012302160705> 56:187–209. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.MICRO.56.012302.160705>
- Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>
- Streubel J, Blücher C, Landgraf A, Boch J (2012) TAL effector RVD specificities and efficiencies. *Nat Biotechnol* 30:593–595. <https://doi.org/10.1038/nbt.2304>
- Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>
- Sturtevant AH (1913) The linear arrangement of six sex linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *J Exp Zool* 14:43–59. <https://doi.org/10.1002/jez.1400140104>

- Su J, Yang L, Zhu Q, et al (2018) Active photosynthetic inhibition mediated by MPK3/MPK6 is critical to effector-triggered immunity. *PLOS Biol* 16:e2004122. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.2004122>
- Sugano S, Sugimoto T, Takatsuji H, Jiang C-J (2013) Induction of resistance to *Phytophthora sojae* in soyabean (*Glycine max*) by salicylic acid and ethylene. *Plant Pathol* 62:1048–1056. <https://doi.org/10.1111/PPA.12011>
- Sugio A, Yang B, Zhu T, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701742104>
- Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) *Xa26*, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>
- Sun Y, Li L, Macho AP, et al (2013) Structural basis for *flg22*-induced activation of the *Arabidopsis* FLS2-BAK1 immune complex. *Science* (80-) 342:624–628. <https://doi.org/10.1126/science.1243825>
- Sundaram RM, Vishnupriya MR, Biradar SK, et al (2007) Marker assisted introgression of bacterial blight resistance in Samba Mahsuri, an elite indica rice variety. *Euphytica* 2007 1603 160:411–422. <https://doi.org/10.1007/S10681-007-9564-6>
- Sweeney M, McCouch S (2007) The Complex History of the Domestication of Rice. *Ann Bot* 100:951–957. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm128>
- Swings J, Mooter M Van Den, Vauterin L, et al (1990) Reclassification of the causal agents of bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of rice as pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev. *Int J Syst Bacteriol* 40:309–311. <https://doi.org/10.1099/00207713-40-3-309>
- Szczesny R, Jordan M, Schramm C, et al (2010) Functional characterization of the Xcs and Xps type II secretion systems from the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *New Phytol* 187:983–1002. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03312.X>
- Szurek B, Rossier O, Hause G, Bonas U (2002) Type III-dependent translocation of the *Xanthomonas* AvrBs3 protein into the plant cell. *Mol Microbiol* 46:13–23. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03139.x>
- Tagami Y, Mizukami T (1962) Historical review of the researches on bacterial blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* (Uyede and Ishiyama) Dowson. *Spec Rep Plant Dis Ins Pests Forecast Serv* 10:112
- Taheri P, Tarighi S (2010) Riboflavin induces resistance in rice against *Rhizoctonia solani* via jasmonate-mediated priming of phenylpropanoid pathway. *J Plant Physiol* 167:201–208. <https://doi.org/10.1016/J.JPLPH.2009.08.003>

- Takai R, Isogai A, Takayama S, Che FS (2008) Analysis of flagellin perception mediated by flg22 receptor OsFLS2 in rice. *Mol Plant-Microbe Interact* 21:1635–1642. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-12-1635>
- Takken FL, Albrecht M, Tameling W IL, et al (2006) Resistance proteins: molecular switches of plant defence. *9:383–390*. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2006.05.009>
- Takken FLW, Goverse A (2012) How to build a pathogen detector: structural basis of NB-LRR function. *Curr Opin Plant Biol* 15:375–384. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2012.05.001>
- Tameling WIL, Vossen JH, Albrecht M, et al (2006) Mutations in the NB-ARC Domain of I-2 That Impair ATP Hydrolysis Cause Autoactivation. *Plant Physiol* 140:1233–1245. <https://doi.org/10.1104/PP.105.073510>
- Tan GX, Ren X, Weng QM, et al (2004) Mapping of a new resistance gene to bacterial blight in rice line introgressed from *Oryza officinalis*. *Acta Genet Sin* 31:724–729
- Tao Z, Liu H, Qiu D, et al (2009) A pair of allelic WRKY genes play opposite roles in rice-bacteria interactions. *Plant Physiol* 151:936–948. <https://doi.org/10.1104/PP.109.145623>
- Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>
- Thiemele D, Albar L, Perez S, et al (2008) Diversité de gènes de résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV) chez l'espèce africaine du riz cultivé *O. glaberrima* Steud-fdi:010043928- Horizon. <https://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:010043928>. Accessed 12 Aug 2021
- Thomas CM, Dixon MS, Parniske M, et al (1998) Genetic and molecular analysis of tomato Cf genes for resistance to *Cladosporium fulvum*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 353:1413–1424. <https://doi.org/10.1098/RSTB.1998.0296>
- Tian D, Wang J, Zeng 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>
- Timilsina S, Potnis N, Newberry EA, et al (2020) *Xanthomonas* diversity, virulence and plant–pathogen interactions. *Nat Rev Microbiol* 18:415–427. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0361-8>
- Tintor N, Ross A, Kanehara K, et al (2013) Layered pattern receptor signaling via ethylene and endogenous elicitor peptides during *Arabidopsis* immunity to bacterial infection. *Proc Natl Acad Sci* 110:6211–6216. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1216780110>
- Torres MA, Dangl JL, Jones JDG (2002) *Arabidopsis* gp91phox homologues AtrbohD and AtrbohF are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response. *Proc Natl Acad Sci* 99:517–522. <https://doi.org/10.1073/PNAS.012452499>

- Torres PS, Malamud F, Rigano LA, et al (2007) Controlled synthesis of the DSF cell–cell signal is required for biofilm formation and virulence in *Xanthomonas campestris*. *Environ Microbiol* 9:2101–2109. <https://doi.org/10.1111/J.1462-2920.2007.01332.X>
- Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice. *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>
- Trdá L, Fernandez O, Boutrot F, 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. <https://doi.org/10.1111/nph.12592>
- Trinh T. (1980) New rice diseases and insects in the Senegal River basin in 1978/79. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19806734835>. Accessed 14 Aug 2021
- Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger 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. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>
- Triplett LR, Verdier V, Campillo T, et al (2015) Characterization of a novel clade of *Xanthomonas* isolated from rice leaves in Mali and proposal of *Xanthomonas maliensis* sp. nov. *Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol* 107:869–881
- Tsuda K, Mine A, Bethke G, et al (2013) Dual Regulation of Gene Expression Mediated by Extended MAPK Activation and Salicylic Acid Contributes to Robust Innate Immunity in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS Genet* 9:e1004015. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1004015>
- Ueno Y, Yoshida R, Kishi-Kaboshi M, et al (2015) Abiotic Stresses Antagonize the Rice Defence Pathway through the Tyrosine-Dephosphorylation of OsMPK6. *PLOS Pathog* 11:e1005231. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1005231>
- Üstün S, Börnke F (2014) Interactions of *Xanthomonas* type-III effector proteins with the plant ubiquitin and ubiquitin-like pathways. *Front Plant Sci* 0:736. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00736>
- Van Andel T (2010) African Rice (*Oryza glaberrima* Steud.): Lost Crop of the Enslaved Africans Discovered in Suriname1. *Econ Bot* 2010 641 64:1–10. <https://doi.org/10.1007/S12231-010-9111-6>
- Van de Weyer AL, Monteiro F, Furzer OJ, et al (2019) A Species-Wide Inventory of NLR Genes and Alleles in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 178:1260-1272.e14. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.07.038>
- Van Der Hoorn RAL, Kamoun S (2008) From guard to decoy: A new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell* 20:2009–2017. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.060194>

- Van Wees SC, Van der Ent S, Pieterse CM (2008) Plant immune responses triggered by beneficial microbes. *Curr Opin Plant Biol* 11:443–448. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2008.05.005>
- Vaughan DA, Lu BR, Tomooka N (2008) The evolving story of rice evolution. *Plant Sci* 174:394–408. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.01.016>
- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Triplett LR, Hummel AW, et al (2012) Transcription activator-like (TAL) effectors targeting OsSWEET genes enhance virulence on diverse rice (*Oryza sativa*) varieties when expressed individually in a TAL effector-deficient strain of *Xanthomonas oryzae*. *New Phytol* 196:1197–1207. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2012.04367.X>
- Verma G, Mondal KK, Kulshreshtha A, Sharma M (2019) XopR T3SS-effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* suppresses cell death-mediated plant defense response during bacterial blight development in rice. *3 Biotech* 9:272. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1802-9>
- Vikal Y, Bhatia D (2017) Genetics and Genomics of Bacterial Blight Resistance in Rice. In: *Advances in International Rice Research*. InTech
- Vleeshouwers V, Oliver R (2014) Effectors as tools in disease resistance breeding against biotrophic, hemibiotrophic, and necrotrophic plant pathogens. *Mol Plant Microbe Interact* 27:196–206. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-13-0313-IA>
- Vojnov AA, Zorreguieta A, Dow JM, et al (1998) Evidence for a role for the gumB and gumC gene products in the formation of xanthan from its pentasaccharide repeating unit by *Xanthomonas campestris*. *Microbiology* 144:1487–1493. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-6-1487>
- Vorhölter F-J, Niehaus K, Pühler A (2001) Lipopolysaccharide biosynthesis in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*: a cluster of 15 genes is involved in the biosynthesis of the LPS O-antigen and the LPS core. *Mol Genet Genomics* 201 266:79–95. <https://doi.org/10.1007/S004380100521>
- Voytas DF, Joung JK (2009) DNA Binding Made Easy. *Science* (80-) 326:1491–1492. <https://doi.org/10.1126/science.1183604>
- Waksman G (2019) From conjugation to T4S systems in Gram-negative bacteria: a mechanistic biology perspective. *EMBO Rep* 20:e47012. <https://doi.org/10.15252/EMBR.201847012>
- Wang C, Chen S, Feng A, et al (2021) Xa7, a Small Orphan Gene Harboring Promoter Trap for AvrXa7, Leads to the Durable Resistance to *Xanthomonas oryzae* Pv. *oryzae*. *Rice* 14:48. <https://doi.org/10.1186/s12284-021-00490-z>
- Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014a) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>

- Wang C, Wen G, Lin X, et al (2009) Identification and fine mapping of the new bacterial blight resistance gene, Xa31(t), in rice. *Eur J Plant Pathol* 123:235–240. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9356-4>
- Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015a) XA23 Is an executor protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>
- Wang D, Pan Y, Zhao X, et al (2011) Genome-wide temporal-spatial gene expression profiling of drought responsiveness in rice. *BMC Genomics* 2011 12:1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-149>
- Wang G, Ding X, Yuan M, et al (2006) Dual function of rice OsDR8 gene in disease resistance and thiamine accumulation. *Plant Mol Biol* 60:437–449. <https://doi.org/10.1007/S11103-005-4770-X>
- Wang G, Roux B, Feng F, 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. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2015.08.004>
- Wang JJ, Hu M, Wang JJ, et al (2019a) Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science* (80-) 364:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAV5870>
- Wang JJ, Wang JJ, Hu M, et al (2019b) Ligand-triggered allosteric ADP release primes a plant NLR complex. *Science* (80-) 364:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAV5868>
- Wang L, Rinaldi FC, Singh P, et al (2017) TAL Effectors Drive Transcription Bidirectionally in Plants. *Mol Plant* 10:285–296. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.12.002>
- Wang L, Zhao L, Zhang X, et al (2019c) Large-scale identification and functional analysis of NLR genes in blast resistance in the Tetep rice genome sequence. *Proc Natl Acad Sci* 116:18479–18487. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1910229116>
- Wang M, Yu Y, Haberer G, et al (2014b) The genome sequence of African rice (*Oryza glaberrima*) and evidence for independent domestication. *Nat Genet* 46:982–988. <https://doi.org/10.1038/ng.3044>
- Wang T, Si M, Song Y, et al (2015c) Type VI Secretion System Transports Zn²⁺ to Combat Multiple Stresses and Host Immunity. *PLOS Pathog* 11:e1005020. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1005020>
- Weaver LM, Swiderski MR, Li Y, Jones JDG (2006) The Arabidopsis thaliana TIR-NB-LRR R-protein, RPP1A; protein localization and constitutive activation of defence by truncated alleles in tobacco and Arabidopsis. *Plant J* 47:829–840. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2006.02834.X>
- Webb KM, Oña I, Bai J, et al (2010) A benefit of high temperature: increased effectiveness of a rice bacterial blight disease resistance gene. *New Phytol* 185:568–576. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2009.03076.X>

- Wei X, Liu F, Chen C, et al (2014) The *Malus domestica* sugar transporter gene family: identifications based on genome and expression profiling related to the accumulation of fruit sugars. *Front Plant Sci* 0:569. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00569>
- Wichmann G, Bergelson J (2004) Effector Genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* Promote Transmission and Enhance Other Fitness Traits in the Field. *Genetics* 166:693–706. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/166.2.693>
- Williams SJ, Sornaraj P, deCourcy-Ireland E, et al (2011) An Autoactive Mutant of the M Flax Rust Resistance Protein Has a Preference for Binding ATP, Whereas Wild-Type M Protein Binds ADP. <http://dx.doi.org/101094/MPMI-03-11-0052> 24:897–906. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-11-0052>
- Willmann R, Lajunen HM, Erbs G, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112862108>
- Wing RA, Ammiraju JSS, Luo M, et al (2005) The *Oryza* map alignment project: The golden path to unlocking the genetic potential of wild rice species. *Plant Mol Biol* 59:53–62. <https://doi.org/10.1007/s11103-004-6237-x>
- Wonni I, Detemmerman L, Dao S, et al (2011) Genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* from West Africa — ILVO. <https://pureportal.ilvo.be/nl/publications/genetic-diversity-of-emxanthomonas-oryzae-empv-emoryzicolaem-from>. Accessed 14 Aug 2021
- Wood DW, Setubal JC, Kaul R, et al (2001) The Genome of the Natural Genetic Engineer *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* (80-) 294:2317–2323. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1066804>
- Wu L, Mei LG, Sreekala C, 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. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123356>
- Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x>
- Xiao J, Cheng H, Li X, et al (2013) Rice WRKY13 regulates cross talk between abiotic and biotic stress signaling pathways by selective binding to different cis-elements. *Plant Physiol* 163:1868–1882. <https://doi.org/10.1104/PP.113.226019>
- Xiao J, Grandlillo S, Sang Nag Ahn, et al (1996) Genes from wild rice improve yield. *Nature* 384:223–224. <https://doi.org/10.1038/384223a0>
- Xiao W, Liu H, Li Y, et al (2009) A rice gene of de novo origin negatively regulates pathogen-induced defense response. *PLoS One* 4:. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0004603>
- Xie Z, Nolan TM, Jiang H, Yin Y (2019) AP2/ERF transcription factor regulatory networks in hormone and abiotic stress responses in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 10:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00228>

- Xu D, Xue Q, McElroy D, et al (1996) Constitutive expression of a cowpea trypsin inhibitor gene, CpTi, in transgenic rice plants confers resistance to two major rice insect pests. *Mol Breed* 1996 22 2:167–173. <https://doi.org/10.1007/BF00441431>
- Yamada K, Yamaguchi K, Shirakawa T, et al (2016) The Arabidopsis CERK1-associated kinase PBL27 connects chitin perception to MAPK activation. *EMBO J* 35:2468–2483. <https://doi.org/10.15252/EMBJ.201694248>
- Yamaguchi K, Yamada K, Ishikawa K, et al (2013) A receptor-like cytoplasmic kinase targeted by a plant pathogen effector is directly phosphorylated by the chitin receptor and mediates rice immunity. *Cell Host Microbe* 13:347–357. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.02.007>
- Yamaguchi Y, Huffaker A, Bryan AC, et al (2010) PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in Arabidopsis. *Plant Cell* 22:508–522. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.068874>
- Yamaguchi Y, Pearce G, Ryan CA (2006) The cell surface leucine-rich repeat receptor for AtPep1, an endogenous peptide elicitor in Arabidopsis, is functional in transgenic tobacco cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10104–10109. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603729103>
- Yan H, Zhao Y, Shi H, et al (2018) BRASSINOSTEROID-SIGNALING KINASE1 Phosphorylates MAPKKK5 to Regulate Immunity in Arabidopsis. *Plant Physiol* 176:2991–3002. <https://doi.org/10.1104/PP.17.01757>
- Yang B, Bogdanove A (2013) Inoculation and Virulence Assay for Bacterial Blight and Bacterial Leaf Streak of Rice. *Methods Mol Biol* 956:249–255. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-194-3_18
- Yang B, Sugio A, White FF (2006) Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10503–10508. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604088103>
- Yang B, Zhu W, Johnson LB, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.170286897>
- Yang H, Gou X, He K, et al (2010) BAK1 and BKK1 in Arabidopsis thaliana confer reduced susceptibility to turnip crinkle virus. *Eur J Plant Pathol* 2010 1271 127:149–156. <https://doi.org/10.1007/S10658-010-9581-5>
- Yang JW, Yi HS, Kim H, et al (2011) Whitefly infestation of pepper plants elicits defence responses against bacterial pathogens in leaves and roots and changes the below-ground microflora. *J Ecol* 99:46–56. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01756.x>
- Yang Y, Feyter R De, Gabriel DW (1994) Host-Specific Symptoms and Increased Release of *Xanthomonas citri* and *X. campestris* pv. *malvacearum* from Leaves Are Determined by the 102-bp Tandem Repeats of *pthA* and *avrB6*, Respectively. *American Phytopathological Society*

- Yang Y, Gabriel DW (1995) Intragenic recombination of a single plant pathogen gene provides a mechanism for the evolution of new host specificities. *J Bacteriol* 177:4963–4968. <https://doi.org/10.1128/JB.177.17.4963-4968.1995>
- Yeats TH, Rose JKC (2013) The Formation and Function of Plant Cuticles. *Plant Physiol* 163:5–20. <https://doi.org/10.1104/PP.113.222737>
- Yonemaru JI, Ebana K, Yano M (2014) HapRice, an SNP haplotype database and a web tool for rice. *Plant Cell Physiol* 55:e9–e9. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct188>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Yoshimura S, Yoshimura A, Iwata N, et al (1995) Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers. *Mol Breed* 1:375–387. <https://doi.org/10.1007/BF01248415>
- Yu J, Hu S, Wang J, et al (2002) A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica). *Science* (80-) 296:79–92. <https://doi.org/10.1126/science.1068037>
- Yuan M, Jiang Z, Bi G, et al (2021) Pattern-recognition receptors are required for NLR-mediated plant immunity. *Nat* 2021 5927852 592:105–109. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03316-6>
- Yuan M, Ke Y, Huang R, et al (2016) A host basal transcription factor is a key component for infection of rice by TALE-carrying bacteria. *Elife* 5:. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.19605>
- Yue J-X, Meyers BC, Chen J-Q, et al (2012) Tracing the origin and evolutionary history of plant nucleotide-binding site–leucine-rich repeat (NBS-LRR) genes. *New Phytol* 193:1049–1063. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2011.04006.X>
- Yun MH, Torres PS, Oirdi M El, et al (2006) Xanthan Induces Plant Susceptibility by Suppressing Callose Deposition. *Plant Physiol* 141:178–187. <https://doi.org/10.1104/PP.105.074542>
- Zaka A, Grande G, Coronejo T, et al (2018) Natural variations in the promoter of OsSWEET13 and OsSWEET14 expand the range of resistance against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *PLoS One* 13:e0203711. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0203711>
- Zeng ZB (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136:1457–1468. <https://doi.org/10.1093/genetics/136.4.1457>
- Zhai J, Jeong DH, de Paoli E, et al (2011) MicroRNAs as master regulators of the plant NB-LRR defense gene family via the production of phased, trans-acting siRNAs. *Genes Dev* 25:2540–2553. <https://doi.org/10.1101/gad.177527.111>
- Zhang B, Zhang H, Li F, et al (2020) Multiple Alleles Encoding Atypical NLRs with Unique Central Tandem Repeats in Rice Confer Resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Commun* 1:. <https://doi.org/10.1016/J.XPLC.2020.100088>

- Zhang F, Zhuo D-L, Zhang F, et al (2015) Xa39, a novel dominant gene conferring broad-spectrum resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice. *Plant Pathol* 64:568–575. <https://doi.org/10.1111/PPA.12283>
- Zhang G, Chen M, Li L, et al (2009) Overexpression of the soybean GmERF3 gene, an AP2/ERF type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco. *J Exp Bot* 60:3781–3796. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp214>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>
- Zhang J, Shao F, Li Y, et al (2007) A *Pseudomonas syringae* Effector Inactivates MAPKs to Suppress PAMP-Induced Immunity in Plants. *Cell Host Microbe* 1:175–185. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2007.03.006>
- Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>
- Zhang L, Li H, Wang J (2012) The Statistical Power of Inclusive Composite Interval Mapping in Detecting Digenic Epistasis Showing Common F2 Segregation Ratios. *J Integr Plant Biol* 54:270–279. <https://doi.org/10.1111/J.1744-7909.2012.01110.X>
- Zhang Q, Chen Q, Wang S, et al (2014) Rice and cold stress: methods for its evaluation and summary of cold tolerance-related quantitative trait loci. *Rice* 2014 71 7:1–12. <https://doi.org/10.1186/S12284-014-0024-3>
- Zhang Q, Liang Z, Cui X, et al (2018) N6-Methyladenine DNA Methylation in Japonica and Indica Rice Genomes and Its Association with Gene Expression, Plant Development, and Stress Responses. *Mol Plant* 11:1492–1508. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2018.11.005>
- Zhang Y, Xia R, Kuang H, Meyers BC (2016) The Diversification of Plant NBS-LRR Defense Genes Directs the Evolution of MicroRNAs That Target Them. *Mol Biol Evol* 33:2692–2705. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSW154>
- Zhao H, Yao W, Ouyang Y, et al (2015) RiceVarMap: A comprehensive database of rice genomic variations. *Nucleic Acids Res* 43:D1018–D1022. <https://doi.org/10.1093/nar/gku894>
- Zheng CK, WANG CL, YU YJ, et al (2009) Identification and Molecular Mapping of Xa32(t), a Novel Resistance Gene for Bacterial Blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) in Rice. *Acta Agron Sin* 35:1173–1180. [https://doi.org/10.1016/S1875-2780\(08\)60089-9](https://doi.org/10.1016/S1875-2780(08)60089-9)
- Zhou J, Peng Z, Long J, et al (2015) Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. *Plant J* 82:632–643. <https://doi.org/10.1111/tpj.12838>
- Zhou Y, Yang P, Cui F, et al (2016) Transcriptome Analysis of Salt Stress Responsiveness in the Seedlings of Dongxiang Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *PLoS One* 11:e0146242. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0146242>

- Zhu S, Li Y, Vossen JH, et al (2012) Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Res* 21:89–99. <https://doi.org/10.1007/s11248-011-9510-1>
- Zhu W, Yang B, Chittoor JM, et al (1998) AvrXa10 contains an acidic transcriptional activation domain in the functionally conserved C terminus. *Mol Plant-Microbe Interact* 11:824–832. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.8.824>
- Zipfel C (2014) Plant pattern-recognition receptors. *Trends Immunol* 35:345–351. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.05.004>
- Zipfel C, Kunze G, Chinchilla D, et al (2006) Perception of the Bacterial PAMP EF-Tu by the Receptor EFR Restricts Agrobacterium-Mediated Transformation. *Cell* 125:749–760. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.03.037>
- Zipfel C, Oldroyd GED (2017) Plant signalling in symbiosis and immunity. *Nature* 543:328–336
- Zou M, Guan Y, Ren H, et al (2008) A bZIP transcription factor, OsABI5, is involved in rice fertility and stress tolerance. *Plant Mol Biol* 66:675–683. <https://doi.org/10.1007/S11103-008-9298-4>
- Zuo KJ, Qin J, Zhao JY, et al (2007) Over-expression GbERF2 transcription factor in tobacco enhances brown spots disease resistance by activating expression of downstream genes. *Gene* 391:80–90. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2006.12.019>
- Zvereva AS, Golyaev V, Turco S, et al (2016) Viral protein suppresses oxidative burst and salicylic acid-dependent autophagy and facilitates bacterial growth on virus-infected plants. *New Phytol* 211:1020–1034. <https://doi.org/10.1111/NPH.13967>

ii) Discussion

- Albar L, Lorieux M, Ahmadi N, et al (1998) Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus. I. QTLs identification and relationship between resistance and plant morphology. *Theor Appl Genet* 1998 977 97:1145–1154. <https://doi.org/10.1007/S001220051003>
- Andersen EJ, Nepal MP (2019) Diversification of Disease Resistance Receptors by Integrated Domain Fusions in Wheat and its Progenitors. *bioRxiv* 695148. <https://doi.org/10.1101/695148>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Athinuwat D, Prathuangwong S, Cursino L, Burr T (2009) *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* soybean cultivar virulence specificity is determined by avrbs3 homolog avrXgl. *Phytopathology* 99:996–1004. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-8-0996>

- Baggs E, Dagdas G, Krasileva K V. (2017) NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR IDentity. *Curr Opin Plant Biol* 38:59–67.
<https://doi.org/10.1016/J.PBI.2017.04.012>
- Ballvora A, Pierre M, Van den Ackerveken G, et al (2001) Genetic mapping and functional analysis of the tomato Bs4 locus governing recognition of the *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* AvrBs4 protein. *Mol Plant-Microbe Interact* 14:629–638.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.5.629>
- Barragan CA, Wu R, Kim ST, et al (2019) RPW8/HR repeats control NLR activation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet* 15:e1008313. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008313>
- Barrett LG, Thrall PH, Dodds PN, et al (2009) Diversity and Evolution of Effector Loci in Natural Populations of the Plant Pathogen *Melampsora lini*. *Mol Biol Evol* 26:2499–2513.
<https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSP166>
- Batut P, Gingeras TR (2013) RAMPAGE: Promoter Activity Profiling by Paired-End Sequencing of 5'-Complete cDNAs. *Curr Protoc Mol Biol* 104:25B.11.1-25B.11.16.
<https://doi.org/10.1002/0471142727.MB25B11S104>
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512.
<https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bogdanove AJ, Voytas DF (2011) TAL effectors: Customizable proteins for DNA targeting. *Science* (80-) 333:1843–1846. <https://doi.org/10.1126/science.1204094>
- Bonas U, Conrads-Strauch J, Balbo I (1993) Resistance in tomato to *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* is determined by alleles of the pepper-specific avirulence gene *avrBs3*. *Mol Gen Genet MGG* 1993 2381 238:261–269. <https://doi.org/10.1007/BF00279555>
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Brown JKM (2015) Durable Resistance of Crops to Disease: A Darwinian Perspective.
<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045914> 53:513–539.
<https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-102313-045914>
- Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- Cesari S, Bernoux M, Moncuquet P, et al (2014) A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: The “integrated decoy” hypothesis. *Front Plant Sci* 5:606.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00606>
- Chae E, Bomblies K, Kim ST, et al (2014) Species-wide Genetic Incompatibility Analysis Identifies Immune Genes as Hot Spots of Deleterious Epistasis. *Cell* 159:1341–1351.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.10.049>

- Chen S, Huang Z, Zeng L, et al (2008) High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae* resistance gene Xa7. *Mol Breed* 2008 223 22:433–441. <https://doi.org/10.1007/S11032-008-9187-1>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chu Z, Fu B, Yang H, et al (2006) Targeting xa13, a recessive gene for bacterial blight resistance in rice. *Theor Appl Genet* 112:455–461. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0145-6>
- Cook A, Guevara Y (1984) Hypersensitivity in *Capsicum chacoense* to race 1 of the bacterial spot pathogen of pepper
- Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ (2013) Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* (80-) 341:746–751. <https://doi.org/10.1126/science.1236011>
- Denancé N, Szurek B, Doyle EL, et al (2018) Two ancestral genes shaped the *Xanthomonas campestris* TAL effector gene repertoire. *New Phytol* 219:391–407. <https://doi.org/10.1111/nph.15148>
- Dong S, Stam R, Cano LM, et al (2014) Effector Specialization in a Lineage of the Irish Potato Famine Pathogen. *Science* (80-) 343:552–555. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1246300>
- Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT) 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122. <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2021) Epigenetic features improve TALE target prediction. *bioRxiv* 2021.06.14.448323
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2019) PrediTAL: A novel model learned from quantitative data allows for new perspectives on TALE targeting. *Public Library of Science*
- Erkes A, Reschke M, Boch J, Grau J (2017) Evolution of transcription activator-like effectors in *Xanthomonas oryzae*. *Genome Biol Evol* 9:1599–1699. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx108>
- Escolar L, Van Den Ackerveken G, Pieplow S, et al (2001) Type III secretion and in planta recognition of the *Xanthomonas* avirulence proteins AvrBs1 and AvrBsT. *Mol Plant Pathol* 2:287–296. <https://doi.org/10.1046/j.1464-6722.2001.00077.x>
- Ferreira RM, de Oliveira ACP, Moreira LM, et al (2015) A TALE of Transposition: Tn3-like transposons play a major role in the spread of pathogenicity determinants of *xanthomonas citri* and other *xanthomonads*. *MBio* 6:. <https://doi.org/10.1128/MBIO.02505-14>
- Flor HH (1971) Current status of the gene-for-gene concept. 275–296
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>

- González VM, Müller S, Baulcombe D, Puigdomènech P (2015) Evolution of NBS-LRR Gene Copies among Dicot Plants and its Regulation by Members of the miR482/2118 Superfamily of miRNAs. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.013>
- Grau J, Boch J, Posch S (2013) TALENoffer: genome-wide TALEN off-target prediction. *Bioinformatics* 29:2931–2932. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTT501>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Gururani MA, Venkatesh J, Upadhyaya CP, et al (2012) Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiol Mol Plant Pathol* 78:51–65. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2012.01.002>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>
- Hu Y, Zhang J, Jia H, et al (2014) Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E521–E529. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313271111>
- Huang L, Brooks S, Li W, et al (2009) Evolution of New Disease Specificity at a Simple Resistance Locus in a Crop–Weed Complex: Reconstitution of the Lr21 Gene in Wheat. *Genetics* 182:595–602. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.099614>
- Huerta AI, Delorean EE, Bossa-Castro AM, et al (2021) Resistance and susceptibility QTL identified in a rice MAGIC population by screening with a minor-effect virulence factor from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Biotechnol J* 19:51–63. <https://doi.org/10.1111/pbi.13438>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Jiang GH, Xia ZH, Zhou YL, et al (2006) Testifying the rice bacterial blight resistance gene xa5 by genetic complementation and further analyzing xa5 (Xa5) in comparison with its homolog TFIIAγ1. *Mol Genet Genomics* 275:354–366. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0091-7>
- Jordan T, Römer P, Meyer A, et al (2006) Physical delimitation of the pepper Bs3 resistance gene specifying recognition of the AvrBs3 protein from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Theor Appl Genet* 113:895–905. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0349-4>

- Kay S, Boch J, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0838>
- Kim NH, Choi HW, Hwang BK (2010) *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Effector AvrBsT Induces Cell Death in Pepper, but Suppresses Defense Responses in Tomato. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-23-8-1069> 23:1069–1082. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-8-1069>
- Kim S, Park J, Yeom S-I, et al (2017) New reference genome sequences of hot pepper reveal the massive evolution of plant disease-resistance genes by retroduplication. *Genome Biol* 2017 18:1–11. <https://doi.org/10.1186/S13059-017-1341-9>
- Krattinger SG, Keller B (2016) Molecular genetics and evolution of disease resistance in cereals. *New Phytol* 212:320–332. <https://doi.org/10.1111/NPH.14097>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al (2021) TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>
- Leister D (2004) Tandem and segmental gene duplication and recombination in the evolution of plant disease resistance genes. *Trends Genet* 20:116–122. <https://doi.org/10.1016/J.TIG.2004.01.007>
- Li F, Pignatta D, Bendix C, et al (2012) MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:1790–1795. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118282109>
- Li P, Long J, Huang Y, et al (2004) AvrXa3 : A novel member of avrBs3 gene family from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* has a dual function. *Prog Nat Sci* 14:774–780. <https://doi.org/10.1080/10020070412331344311>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Long J, Song C, Yan F, et al (2018) Non-TAL effectors from *xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* suppress peptidoglycan-triggered MAPK activation in rice. *Front Plant Sci* 871:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01857>
- Lu X, Kracher B, Saur IML, et al (2016) Allelic barley MLA immune receptors recognize sequence-unrelated avirulence effectors of the powdery mildew pathogen. *Proc Natl Acad Sci* 113:E6486–E6495. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1612947113>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Luu DD, Joe A, Chen Y, et al (2019) Biosynthesis and secretion of the microbial sulfated peptide RaxX and binding to the rice XA21 immune receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116:8525–8534. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818275116>

- M'Barek S Ben, Karisto P, Fakhfakh M, et al (2019) Improved control of *Septoria tritici* blotch in durum wheat using cultivar mixtures. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/664078>
- Mago R, Zhang P, Vautrin S, et al (2015) The wheat Sr50 gene reveals rich diversity at a cereal disease resistance locus. *Nat Plants* 2015 112 1:1–3. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.186>
- McDonald BA, Linde C (2002a) Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:349–379
- McDonald BA, Linde C (2002b) The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica* 2002 1242 124:163–180. <https://doi.org/10.1023/A:1015678432355>
- Mesarich CH, Bowen JK, Hamiaux C, Templeton MD (2015) Repeat-containing protein effectors of plant-associated organisms. *Front Plant Sci* 0:872. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00872>
- Minsavage G V. (1990) Gene-For-Gene Relationships Specifying Disease Resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* - Pepper Interactions. *Mol Plant-Microbe Interact* 3:41. <https://doi.org/10.1094/MPMI-3-041>
- Mondragon-Palomino M, Gaut BS (2005) Gene Conversion and the Evolution of Three Leucine-Rich Repeat Gene Families in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Biol Evol* 22:2444–2456. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSI241>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Mundt CC (2002) Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:381–410
- Osdaghi E, Jones JB, Sharma A, et al (2021) A centenary for bacterial spot of tomato and pepper. *Mol Plant Pathol* 22:1500–1519. <https://doi.org/10.1111/mpp.13125>
- Pérez-Quintero AL, Rodríguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Perez-Quintero AL, Szurek B (2019) A Decade Decoded: Spies and Hackers in the History of TAL Effectors Research. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100026> 57:459–481. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082718-100026>
- Poland JA, Balint-Kurti PJ, Wisser RJ, et al (2009) Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci.* 14:21–29
- Ponciano G, Webb K, Bai J, et al (2004) Molecular characterization of the *avrXa7* locus from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* field isolates. *Physiol Mol Plant Pathol* 64:145–153. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.08.001>
- Popov G, Fraiture M, Brunner F, Sessa G (2016) Multiple *Xanthomonas euvesicatoria* Type III Effectors Inhibit *flg22*-Triggered Immunity. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R> 29:651–660. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R>

- Porter BW, Chittoor JM, Yano M, et al (2003) Development and mapping of markers linked to the rice bacterial blight resistance gene Xa7. John Wiley & Sons, Ltd
- Potnis N, Minsavage G, Smith JK, et al (2012) Avirulence Proteins AvrBs7 from *Xanthomonas gardneri* and AvrBs1.1 from *Xanthomonas euvesicatoria* Contribute to a Novel Gene-for-Gene Interaction in Pepper. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0205> 25:307–320. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0205>
- Pruitt RN, Schwessinger B, Joe A, et al (2015) The rice immune receptor XA21 recognizes a tyrosine-sulfated protein from a Gram-negative bacterium. *Sci Adv* 1:e1500245. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500245>
- Raborn RT, Brendel VP (2019) Using RAMPAGE to Identify and Annotate Promoters in Insect Genomes. *Methods Mol Biol* 1858:99–116. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8775-7_9
- Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020) Genome assembly and characterization of a complex zfBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zfBED-NLR gene-containing Dis Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678. <https://doi.org/10.1101/675678>
- Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516>
- Ri CH, Phe S, Fere Nc E RM, et al (2018) Recent advances in the understanding of *Xanthomonas citri* ssp. *citri* pathogenesis and citrus canker disease management. *Mol Plant Pathol* 19:1302–1318. <https://doi.org/10.1111/MPP.12638>
- Roeschlin RA, Uviedo F, García L, 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. <https://doi.org/10.1111/mpp.12844>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Ronald PC, Staskawicz BJ (1988) The avirulence gene *avrBs1* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* encodes a 50-kD protein. *Mol Plant Microbe Interact* 1:191–198. <https://doi.org/10.1094/MPMI-1-191>
- Roux F, Voisin D, Badet T, et al (2014) Resistance to phytopathogens e tutti quanti: Placing plant quantitative disease resistance on the map. *Mol Plant Pathol* 15:427–432. <https://doi.org/10.1111/MPP.12138>
- Ruh M, Briand M, Bonneau S, et al (2017) *Xanthomonas* adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. *BMC Genomics* 18:670. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4087-6>

- Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, et al (2003) Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theor Appl Genet* 106:794–803. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1088-9>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 91 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol* 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>
- Schorneck S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>
- Schorneck S, Minsavage G V., Stall RE, et al (2008) Characterization of AvrHah1, a novel AvrBs3-like effector from *Xanthomonas gardneri* with virulence and avirulence activity. *New Phytol* 179:546–556. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2008.02487.X>
- Serra H, Choi K, Zhao X, et al (2018) Interhomolog polymorphism shapes meiotic crossover within RAC1 and RPP13 disease resistance genes. *bioRxiv* 290478. <https://doi.org/10.1101/290478>
- Shivaprasad P V., Chen HM, Patel K, et al (2012) A microRNA superfamily regulates nucleotide binding site-leucine-rich repeats and other mRNAs. *Plant Cell* 24:859–874. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.095380>
- Song W-YY, Wang G-LL, Chen L-LL, et al (1995) A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, Xa21. *Science* (80-) 270:1804. <https://doi.org/10.1126/science.270.5243.1804>
- St.clair DA (2010) Quantitative disease resistance and quantitative resistance loci in breeding. *Annu Rev Phytopathol* 48:247–268. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081904>
- Stall RE, Jones JB, Minsavage G V. (2009) Durability of Resistance in Tomato and Pepper to *Xanthomonas* Causing Bacterial Spot. <http://dx.doi.org/101146/annurev-phyto-080508-081752> 47:265–284. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-080508-081752>
- Stam R, Scheikl D, Tellier A (2016) Pooled Enrichment Sequencing Identifies Diversity and Evolutionary Pressures at NLR Resistance Genes within a Wild Tomato Population. *Genome Biol Evol* 8:1501–1515. <https://doi.org/10.1093/GBE/EVW094>
- Stam R, Silva-Arias GA, Tellier A (2019) Subsets of NLR genes show differential signatures of adaptation during colonization of new habitats. *New Phytol* 224:367–379. <https://doi.org/10.1111/NPH.16017>
- Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

- Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>
- Sugio A, Yang B, Zhu T, White FF (2007) Two type III effector genes of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* control the induction of the host genes *OsTFIIA γ 1* and *OsTFX1* during bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:10720–10725. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701742104>
- Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) *Xa26*, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>
- Sun X, Yang Z, Wang S, Zhang Q (2003) Identification of a 47-kb DNA fragment containing *Xa4*, a locus for bacterial blight resistance in rice. *Theor Appl Genet* 106:683–687. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1117-8>
- Tai TH, Dahlbeck D, Clark ET, et al (1999) Expression of the *Bs2* pepper gene confers resistance to bacterial spot disease in tomato. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:14153–14158. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.24.14153>
- Tian D, Wang J, Zeng 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>
- Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice. *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>
- Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger 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. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>
- Vallejos CE, Jones V, Stall RE, et al (2010) Characterization of two recessive genes controlling resistance to all races of bacterial spot in peppers. *Theor Appl Genet* 121:37–46. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1289-6>
- Van de Weyer AL, Monteiro F, Furzer OJ, et al (2019) A Species-Wide Inventory of NLR Genes and Alleles in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 178:1260-1272.e14. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.07.038>
- Vaughan DA, Lu BR, Tomooka N (2008) The evolving story of rice evolution. *Plant Sci* 174:394–408. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.01.016>
- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Triplett LR, Hummel AW, et al (2012) Transcription activator-like (TAL) effectors targeting *OsSWEET* genes enhance virulence on diverse rice (*Oryza sativa*) varieties when

expressed individually in a TAL effector-deficient strain of *Xanthomonas oryzae*. *New Phytol* 196:1197–1207. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2012.04367.X>

- Wang C, Chen S, Feng A, et al (2021) Xa7, a Small Orphan Gene Harboring Promoter Trap for AvrXa7, Leads to the Durable Resistance to *Xanthomonas oryzae* P.v. *oryzae*. *Rice* 14:48. <https://doi.org/10.1186/s12284-021-00490-z>
- Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor r protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>
- Wang L, Rinaldi FC, Singh P, et al (2017) TAL Effectors Drive Transcription Bidirectionally in Plants. *Mol Plant* 10:285–296. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.12.002>
- Wichmann G, Bergelson J (2004) Effector Genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* Promote Transmission and Enhance Other Fitness Traits in the Field. *Genetics* 166:693–706. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/166.2.693>
- Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x>
- Yang B, Sugio A, White FF (2005) Avoidance of host recognition by alterations in the repetitive and C-terminal regions of AvrXa7, a type III effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant-Microbe Interact* 18:142–149. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0142>
- Yang B, Sugio A, White FF (2006) Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10503–10508. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604088103>
- Yang B, Zhu W, Johnson LB, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.170286897>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Yu Y, Streubel J, Balzergue S, 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* 24:1102–1113. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254>
- Zhai J, Jeong DH, de Paoli E, et al (2011) MicroRNAs as master regulators of the plant NB-LRR defense gene family via the production of phased, trans-acting siRNAs. *Genes Dev* 25:2540–2553. <https://doi.org/10.1101/gad.177527.111>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>

- Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>
- Zhang Y, Wang J, Pan J, et al (2009) Identification and molecular mapping of the rice bacterial blight resistance gene allelic to Xa7 from an elite restorer line Zhenhui 084. *Eur J Plant Pathol* 125:235–244. <https://doi.org/10.1007/S10658-009-9478-3/TABLES/4>
- Zhang Y, Xia R, Kuang H, Meyers BC (2016) The Diversification of Plant NBS-LRR Defense Genes Directs the Evolution of MicroRNAs That Target Them. *Mol Biol Evol* 33:2692–2705. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSW154>
- Zhou J, Peng Z, Long J, et al (2015) Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. *Plant J* 82:632–643. <https://doi.org/10.1111/tpj.12838>
- Zhou J, Yang B (2015) Host target genes of the *Xanthomonas oryzae* pv . *oryzae* type III effectors for bacterial blight in rice
- Zhu S, Li Y, Vossen JH, et al (2012) Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Res* 21:89–99. <https://doi.org/10.1007/s11248-011-9510-1>
- Zou HS, Zhao WX, Zhang XF, et al (2010) Identification of an avirulence gene, *avrxa5*, from the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Sci China Life Sci* 2010 53:1440–1449. <https://doi.org/10.1007/S11427-010-4109-Y>

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Biologie des Interactions

École doctorale GAIA

Unité de recherche PHIM, IRD

Caractérisation de nouvelles sources de résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

Présentée par Marlène LACHAUX
Le 09 Mars 2022

Sous la direction de Boris SZUREK
et Mathilde HUTIN

Devant le jury composé de

Mme Alia DELLAGI, Professeure, AgroParisTech Versailles

M. Roland KÖLLIKER, Directeur de recherche, Agroscope Zürich

Mme Claire Neema, Professeure, L'Institut Agro Montpellier

M. Nicolas CHEN, Chargé de recherche, Agrocampus Ouest Angers

Mme Mathilde HUTIN, Chargée de recherche, IRD Montpellier

M. Boris SZUREK, Directeur de recherche, IRD Montpellier

Mme Laurence ALBAR, Chargée de recherche, IRD Montpellier

Rapporteur

Rapporteur

Examinatrice

Examineur

Co-encadrante

Directeur de thèse

Invitée



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

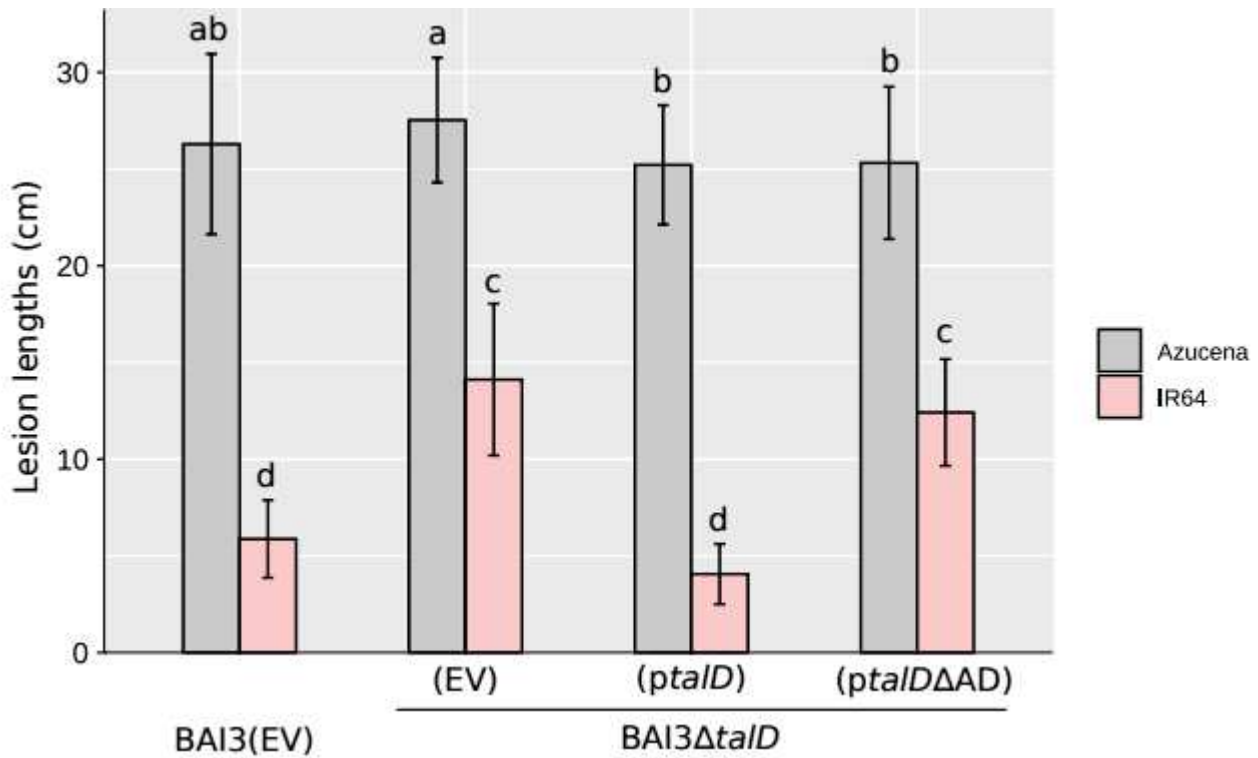


Figure 1. Phenotypic characterization of *TalD* avirulence factor on the IR64 rice variety.

Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and BAI3Δ*talD* carrying an empty vector (EV), a plasmid with *talD* (*ptalD*) or a plasmid with *talD*ΔAD (*ptalD*ΔAD). To assess significance, the parametric test ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm SD. Experiment was repeated three times with similar results.

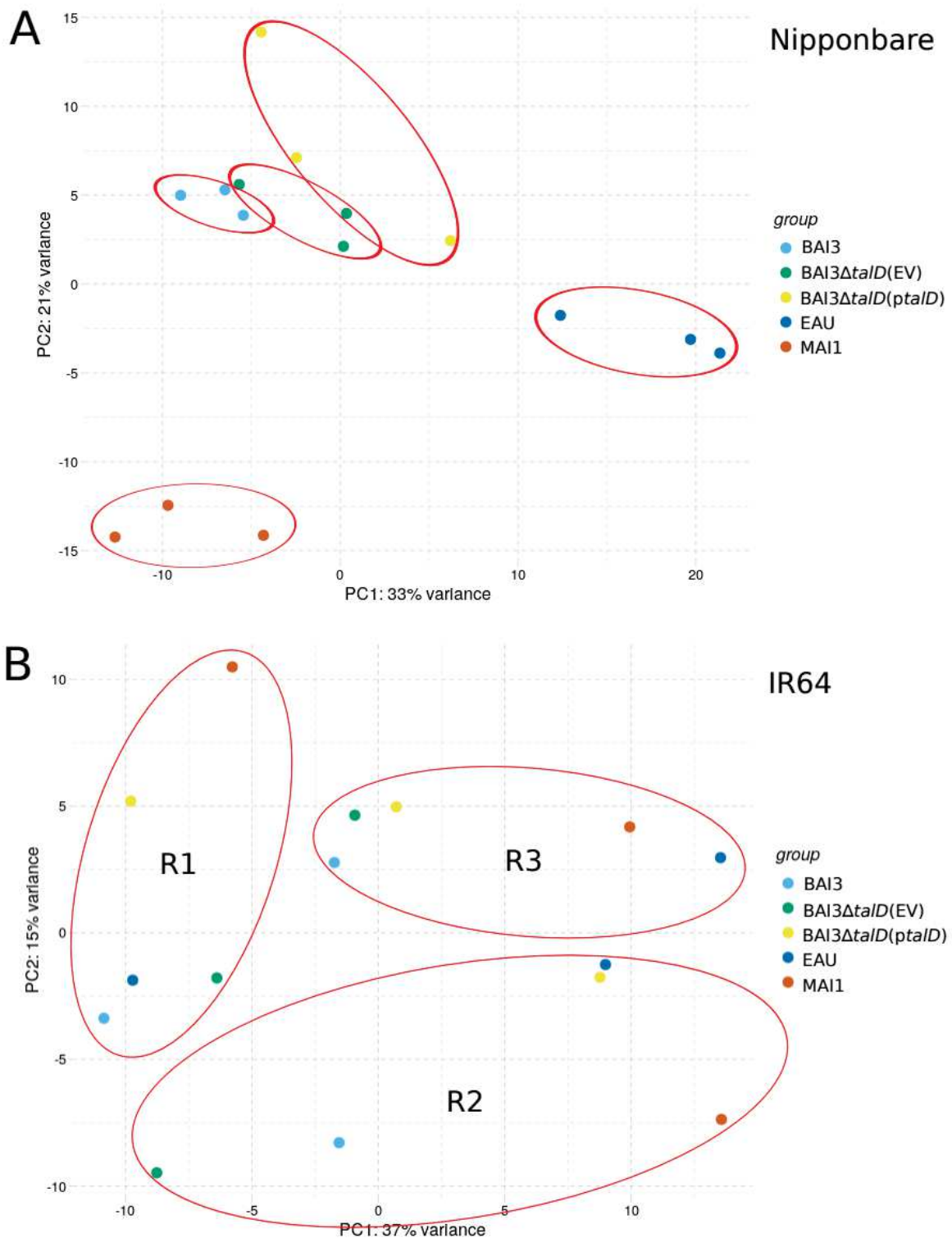


Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries.

Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries was evaluated. Dots represent the different treatments applied to the rice varieties Nipponbare (A) and IR64 (B). Red circles surround samples from the same treatment (A) or biological replicate (B).

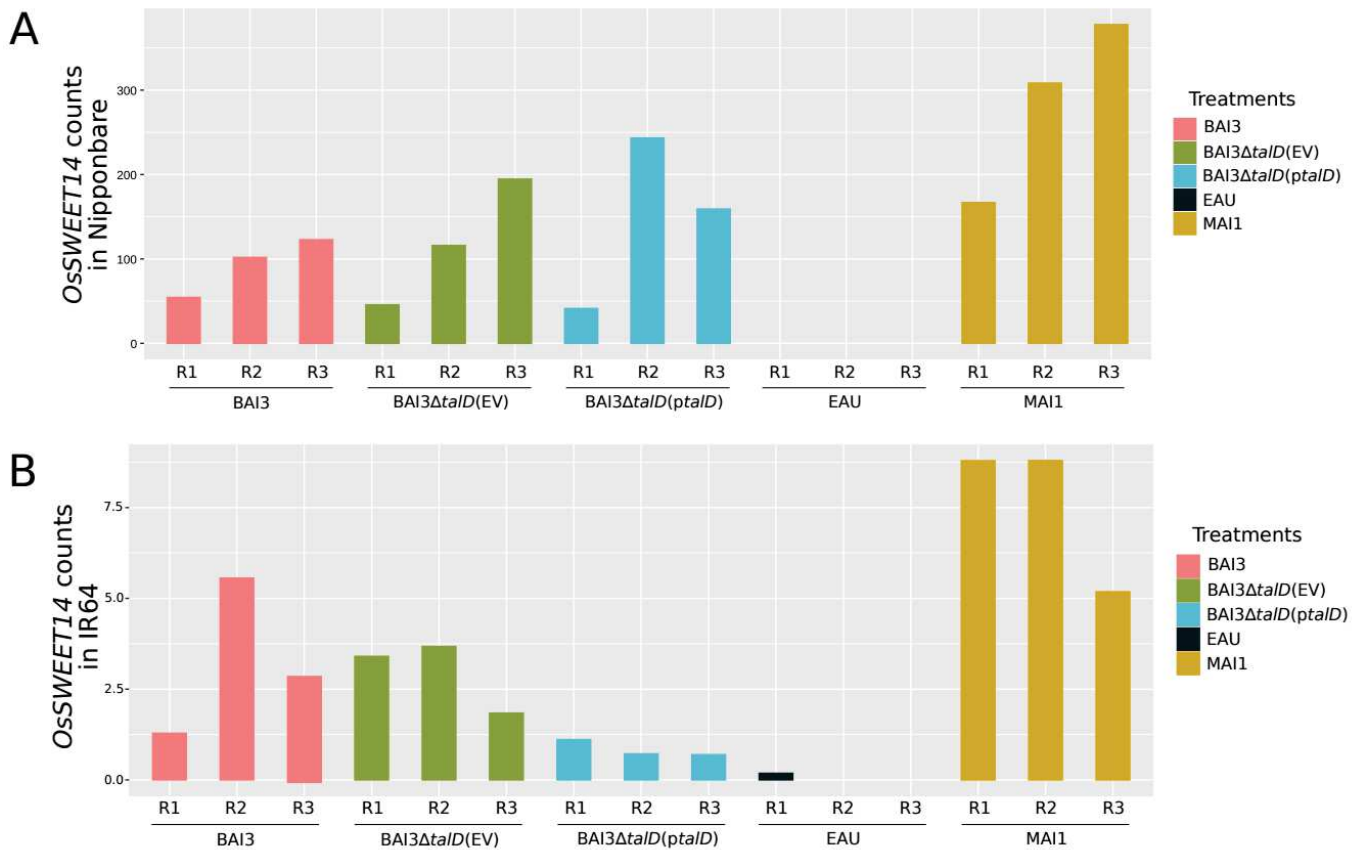


Figure 3. Differential gene expression of *OsSWEET14* in Nipponbare and IR64 rice varieties.

Leaves of 3-week-old Nipponbare (A) and IR64 (B) rice varieties were infiltrated with wild-type *Xoo* strains MAI1 and BAI3 the BAI3Δ*talD* mutant complemented with either an empty vector (EV) or *talD* (*ptalD*), and with water as mock control. Gene expression level of the virulence target genes *OsSWEET14* was determined using HTseq-count (v0.6.0) (Anders et al. 2015), and normalized using reads per million mapped reads values.

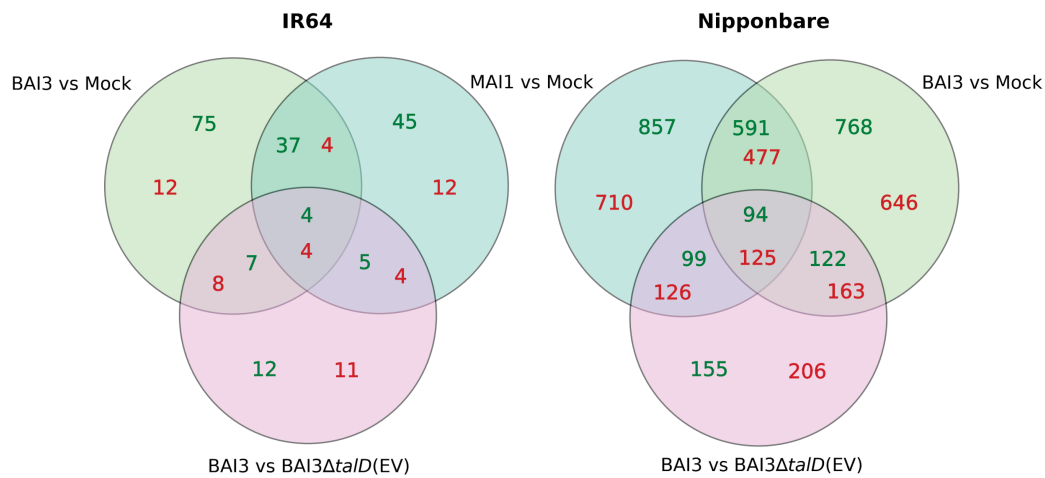


Figure 4. Venn diagram of differential expressed genes in IR64 and Nipponbare, upon the inoculation of MAI1, BAI3 and the BAI3ΔtalD(EV) mutant strains.

IR64 and Nipponbare rice varieties were inoculated with the African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and the BAI3ΔtalD(EV) mutant, and with water as mock control. The number of up-regulated (green) and down-regulated (red) genes between the different comparisons are indicated within circles.

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	Gene expression level ^c (Count/Million)				Ortholog DE ^d	QTL ^e	EBE prediction for TalD ^f					
			BAI3	BAI3 Δ talD(EV)	Mock	MAI1			EBE predicted in IR64	Rank	Score	EBE predicted in Nipponbare	Rank	Score
<i>OsIR64_03g045980</i>	<i>LOC_Os03g61760</i>	Squamosa promoter binding protein-like 6	414.7915	101.4343	101.9531	258.4836	TRUE	FALSE	TRUE	2	13.747	TRUE	3	13.581
<i>OsIR64_07g032900</i>	<i>LOC_Os07g48760</i>	CBL-interacting protein kinase 3	7.9138	0.2632	0.4479	5.0145	TRUE	FALSE	TRUE	306	10.501	TRUE	421	10.364
<i>OsIR64_09g020440</i>	<i>LOC_Os09g34214</i>	Glycosyltransferase	12.5095	6.1651	3.4498	7.1850	TRUE	FALSE	FALSE	NA	NA	FALSE	NA	NA
<i>OsIR64_12g016550</i>	<i>LOC_Os12g31000</i>	PUM-HD domain-containing protein	0.3232	0.1539	0.0794	1.2593	TRUE	FALSE	FALSE	NA	NA	FALSE	NA	NA

Table 1. Common differentially expressed genes induced by BAI3 and MAI1.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation.

^c Gene expression levels were normalized using fragments per kb of exons per million mapped reads values.

^d Ortholog identified and differentially expressed (DE) in Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

^f Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

	TAL_ID	SEQ_ID ^a	Annotation	Chromosome	Strand	SCORE ^b	EBE strand ^c	TALBS_ distance_from _end ^d	TALBS_start ^e	TALBS_end ^e	TALBS_ sequence ^e	RANK ^f
QTL <i>qABB-11</i>	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>1130</i>	Expressed protein	Chr 11	-	10.156	+	-194	807	830	TACCCAGCT ATATCCCAA CCCCA	465
	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>1180</i>	Conserved hypothetical protein	Chr 11	-	9.925	-	-147	831	854	AACAGCTCT CTATCCCATC CTCC	601
	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>3100</i>	Expressed protein	Chr 11	+	9.801	+	-99	902	925	TACGCGTGT CAATTCCAT CAgca	670

Table 2. Genes in the QTL interval of *qABB-11* with a binding site predicted for TalD.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Talvez program was used to score the interaction between TalD and the EBE sequence ; the higher the score it is the greater is the interaction.

^c Talvez program was used to evaluate the position of EBE_{TalD} on the genome strand of IR64.

^d TalD binding site (TALBS) position from the end of the 1000bp selected from the ATG sequence.

^e TalD binding site (TALBS) start/end position, and the genome sequence bound.

^f Rank position among the top 1000 potential TalD targets.

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	Gene expression level ^c (Count/Million)				Ortholog DE ^d	QTL ^e	EBE predicted in IR64 ^f
			BAI3	BAI3 Δ talD(EV)	Mock	MAI1			
<i>OsIR64_03g006810</i>	<i>LOC_Os03g08900</i>	Detoxification protein	212.9686	176.6330	87.7731	88.0699	TRUE	<i>qABB-3b</i>	FALSE
<i>OsIR64_04g014960</i>	<i>LOC_Os04g33150</i>	Desiccation-related protein PCC13-62	8.0437	13.6094	3.0215	7.9804	TRUE	<i>qABB-4</i>	FALSE
<i>OsIR64_07g006980</i>	<i>LOC_Os07g08800</i>	Expressed protein	1.9302	3.1067	1.7927	5.5221	FALSE	<i>qABB-7</i>	FALSE

Table 3. Differentially expressed genes located in the QTLs in IR64 revealed by MAI1 and BAI3.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation.

^c Gene expression levels were normalized using reads per million mapped reads values.

^d Ortholog identified and differentially expressed (DE) in Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

^f Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

Name IR64 ^a	Annotation	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3
<i>OsIR64_11g031440</i>	Protein kinase domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g031510</i>	Expressed protein	x		
<i>OsIR64_11g031560</i>	Conserved hypothetical protein	x		
<i>OsIR64_11g032020</i>	Jacalin-type lectin domain-containing protein			x
<i>OsIR64_11g032080</i>	Os11g0681600 protein	x		
<i>OsIR64_11g032490</i>	Protein kinase domain-containing protein	x		
<i>OsIR64_11g032710</i>	Receptor kinase TRKc	x		
<i>OsIR64_11g032820</i>	Myb-related protein MYBAS1	x		
<i>OsIR64_11g032860</i>	Glycosyl-hydrolase-18 domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g032900</i>	putative xylanase inhibitor protein 1	x		x
<i>OsIR64_11g032970</i>	RING-type domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g033060</i>	non-coding RNA	x	x	
<i>OsIR64_11g033220</i>	GRAS-domain containing protein		x	x

Table 4. List of candidate genes differentially expressed between BAI3 and mock conditions in IR64, located in *qABB-11*.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>). NA means "non-annotated".

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	DE gene in IR64 ^c	EBE prediction for TalD ^d	QTL ^e
<i>OsIR64_03g045980</i>	<i>LOC_Os03g61760</i>	Squamosa promoter binding protein-like 6	x	x	
<i>OsIR64_07g032900</i>	<i>LOC_Os07g48760</i>	CBL-interacting protein kinase 3	x	x	
<i>OsIR64_09g020440</i>	<i>LOC_Os09g34214</i>	Glycosyltransferase	x		
<i>OsIR64_12g016550</i>	<i>LOC_Os12g31000</i>	PUM-HD domain-containing protein	x		
<i>OsIR64_03g006810</i>	<i>LOC_Os03g08900</i>	Detoxification protein	x		x
<i>OsIR64_04g014960</i>	<i>LOC_Os04g33150</i>	Desiccation-related protein PCC13-62	x		x
<i>OsIR64_07g006980</i>	<i>LOC_Os07g08800</i>	Expressed protein	x		x
<i>OsIR64_11g033060</i>	NA	non-coding RNA	x		x
<i>OsIR64_11g033220</i>	<i>LOC_Os11g47900</i>	GRAS-domain containing protein	x		x
<i>OsIR64_11g032900</i>	<i>LOC_Os11g47560</i>	putative xylanase inhibitor protein 1	x		x
<i>OsIR64_11g031130</i>	NA	Expressed protein		x	x
<i>OsIR64_11g031180</i>	NA	Conserved hypothetical protein		x	x
<i>OsIR64_11g033100</i>	NA	Expressed protein		x	x

Table 5. List of candidate genes involved in MAI1 and/or BAI3 resistance in IR64.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation. NA means "non-annotated".

^c Gene differentially expressed (DE) in IR64.

^d Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

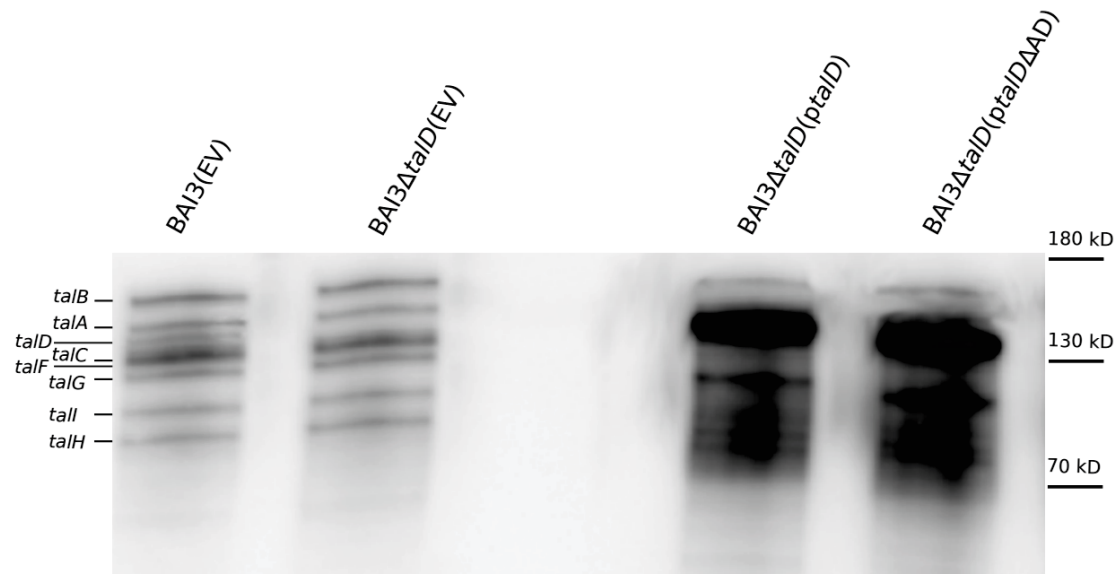


Figure S1. Western blot of total protein extracts of *Xoo* using an anti-TALE polyclonal antibody.

Western blot assay of the *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector (pSKX1_EV), the BAI3Δ*talD* mutant carrying an empty vector (pSKX1_EV), and the BAI3Δ*talD* mutant complemented with *talD* or *talD*ΔAD. The wild type strain BAI3 contains *tal* genes indicated on the left. Molecular weight is indicated on the right.

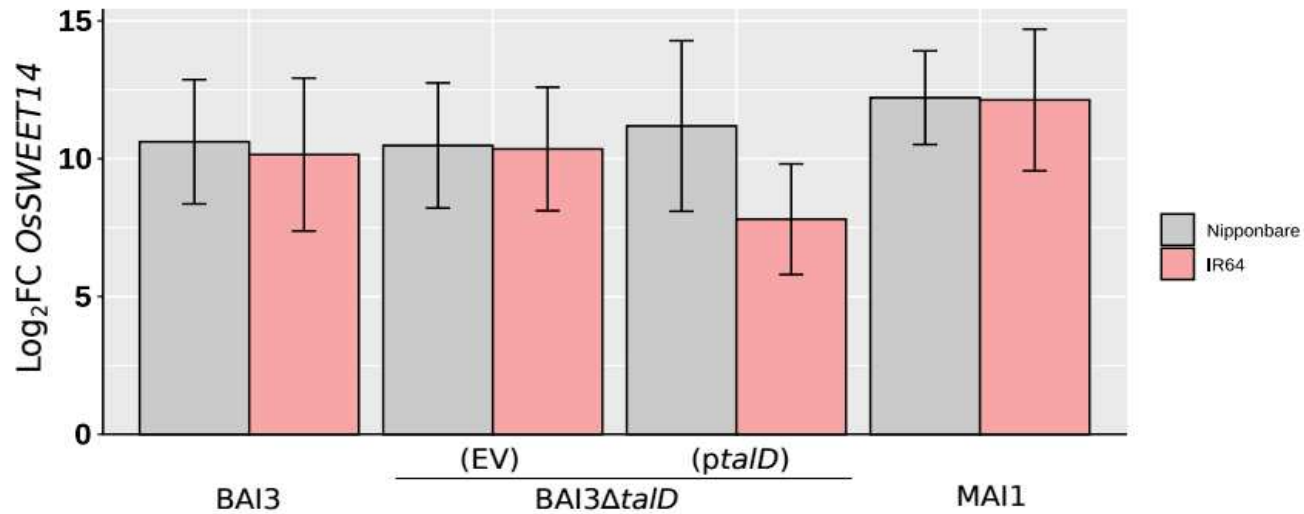


Figure S2. Induction of the susceptibility (*S*) gene *OsSWEET14* in the RNA samples.

Transcript abundance of the virulence target genes *OsSWEET14* was determined by quantitative RT-PCR 24 hours after leaf-infiltration of 3-week-old Nipponbare and IR64 rice varieties with wild-type *Xoo* strains MAI1 and BAI3 the BAI3Δ*talD* mutant complemented with either an empty vector (EV) or *talD* (*ptaID*), and with water as mock control. The fold change was calculated in comparison to leaves treated with water. Actin was used as a reference gene to normalize cDNA amounts. Error bars represent the standard deviation of the mean (SD). Statistical analyses were performed under R software and no significant differences were shown.

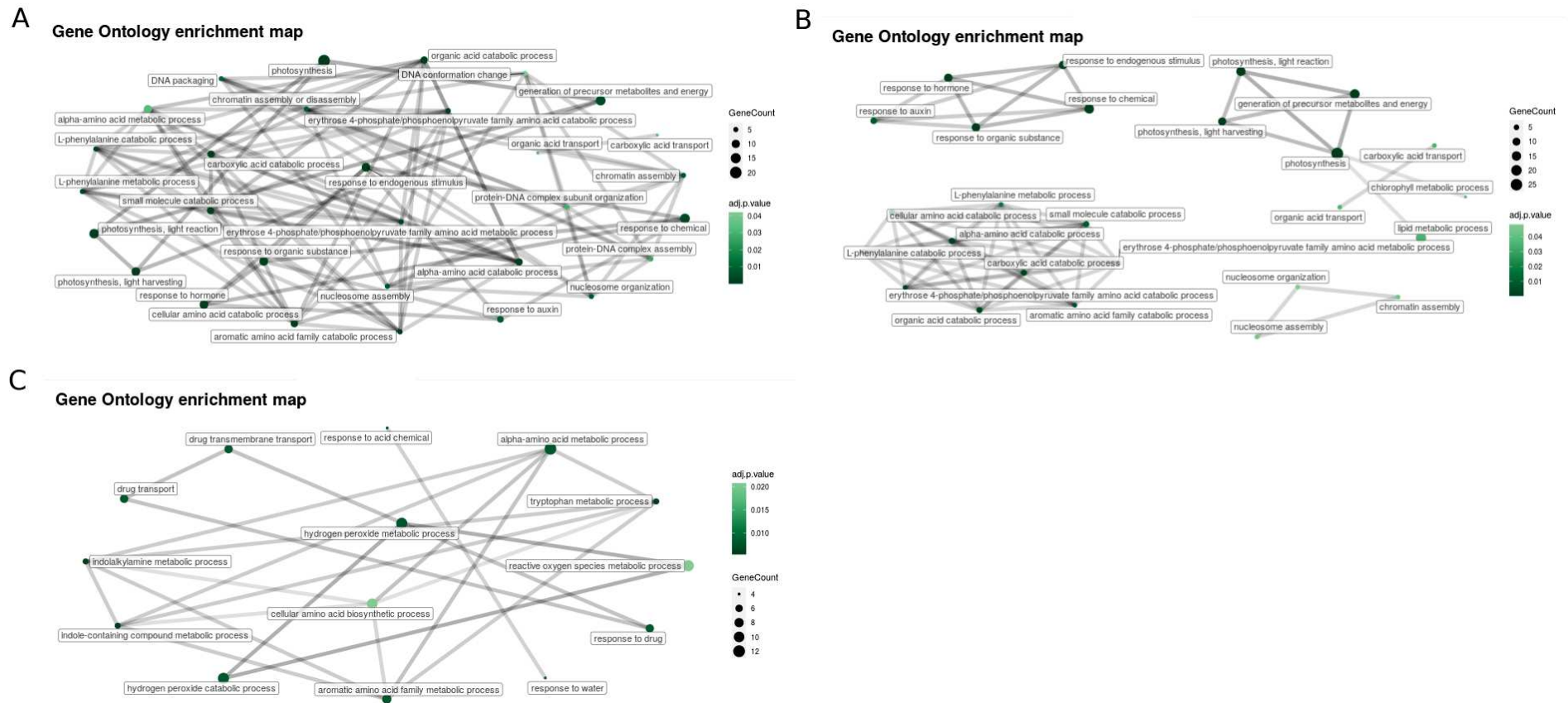


Figure S3. Up- and down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in Nipponbare.

Gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock control, in Nipponbare, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with an adjusted p.value ≤ 0.05 (Droc et al. 2019). Gene ontology of down-regulated genes by MAI1 (A), BAI3 (B) and of up-regulated genes by BAI3 (C).

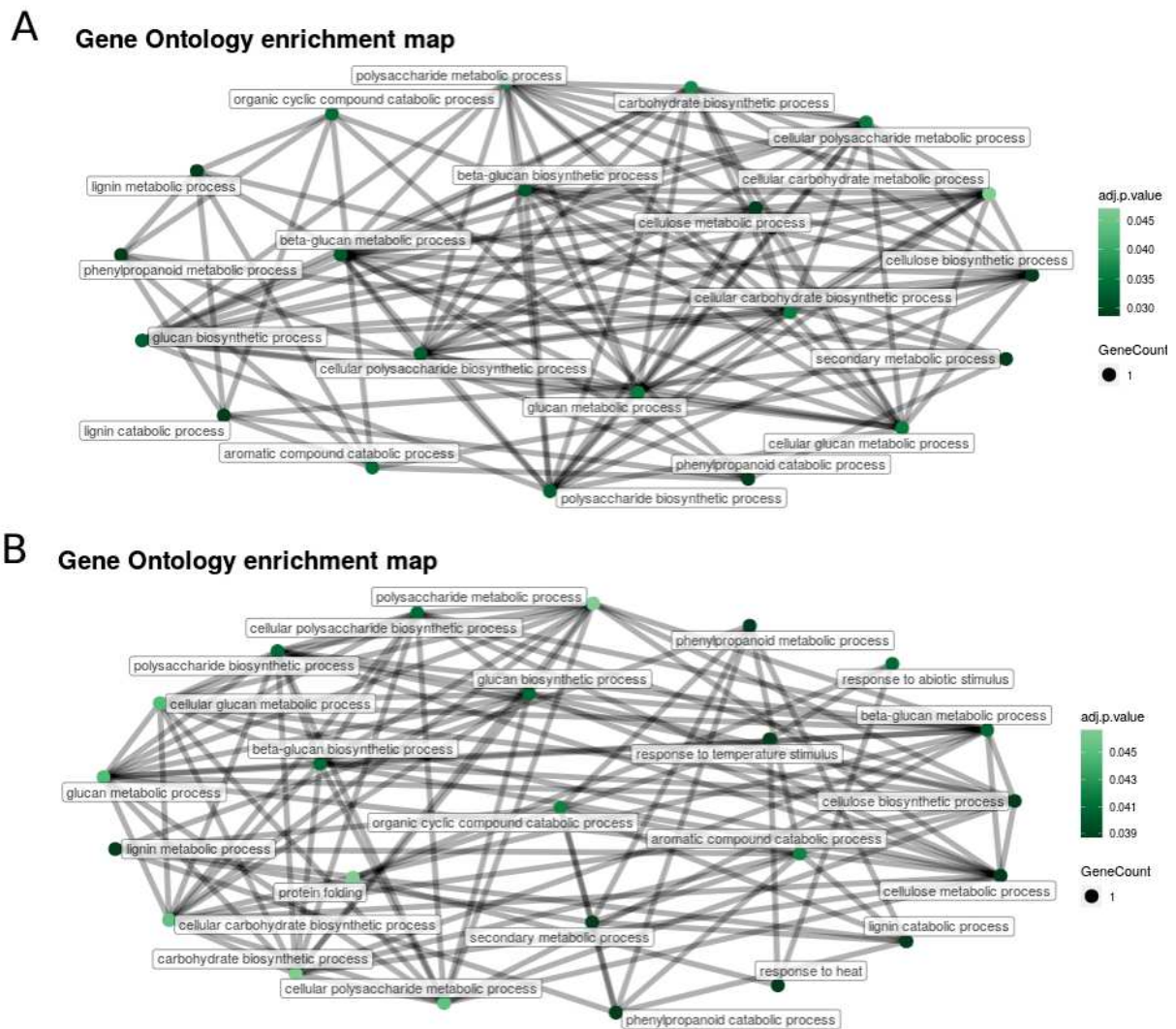


Figure S4. Down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in IR64.

Gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock control, in IR64, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with an adjusted p.value ≤ 0.05 (Droc et al. 2019). LOC_ID from Nipponbare orthologs were used for GO enrichment of IR64 differentially expressed genes. Gene ontology of down-regulated genes by MAI1 (A) and BAI3 (B).

```

OsIR64_03p045980_prot    MEAARVGAQSRHLYGGGLGEPMDRRDKRLLFGWDLNDWRWDSDFVATPVPAEASGLAL 60
LOC_0s03g61760.1_prot    MEAARVGAQSRHLYGGGLGEPMDRRDKRLLFGWDLNDWRWDSDFVATPVPAEASGLAL 60
*****

OsIR64_03p045980_prot    NSSPSSSEEAGAASVRNVNARGSDKRKRKRVVVIDDDVEDDELVENGGGSLSLRIGGDAV 120
LOC_0s03g61760.1_prot    NSSPSSSEEAGAASVRNVNARGSDKRKRKRVVVIDDDVEDDELVENGGGSLSLRIGGDAV 120
*****

OsIR64_03p045980_prot    AHGAGVGGGADEEDRNGKKIRVQGGSPSPGACQVEGCTADLTGVRDYHRRHKVCEMHAKA 180
LOC_0s03g61760.1_prot    AHGAGVGGGADEEDRNGKKIRVQGGSPSPGACQVEGCTADLTGVRDYHRRHKVCEMHAKA 180
*****

OsIR64_03p045980_prot    TTAVVGNTVQRFQCQCSRKSYIVKRRDYYGSNDFGSYLLILKNNFRFHPLQEFDEGKRSC 240
LOC_0s03g61760.1_prot    TTAVVGNTVQRFQCQCS-----RFHPLQEFDEGKRSC 212
*****

OsIR64_03p045980_prot    RRRLAGHNRRRRKTRPEVAVGGSFTEDKISSYLLGLLGVCANLNADNAEHLRQGLIS 300
LOC_0s03g61760.1_prot    RRRLAGHNRRRRKTRPEVAVGGSFTEDKISSYLLGLLGVCANLNADNAEHLRQGLIS 272
*****

OsIR64_03p045980_prot    GLLRNLGAVAKSLDPKELCKLLEACQSMQDGSNAGTSETANALVNTAVAEAGPSNSKMP 360
LOC_0s03g61760.1_prot    GLLRNLGAVAKSLDPKELCKLLEACQSMQDGSNAGTSETANALVNTAVAEAGPSNSKMP 332
*****

OsIR64_03p045980_prot    FVNGDQCGLASSVVPVQSKSPTVATPDPPACKFKDFDLNDTYGGMEGFEDGYEGSPTPA 420
LOC_0s03g61760.1_prot    FVNGDQCGLASSVVPVQSKSPTVATPDPPACKFKDFDLNDTYGGMEGFEDGYEGSPTPA 392
*****

OsIR64_03p045980_prot    FKTTDSPNCPSWMHQDSTQSPQTSGNSDSTSAQSLSSNGDAQWICTSNMLKCCRTDKI 480
LOC_0s03g61760.1_prot    FKTTDSPNCPSWMHQDSTQSPQTSGNSDSTSAQSLSSNGDAQ-----CRTDKI 442
*****

OsIR64_03p045980_prot    VFKLFEKVPSDLPPVLRSQLGLWSSSPTDIESYIRPGCIILTVYLRLVESAWKELSDNM 540
LOC_0s03g61760.1_prot    VFKLFEKVPSDLPPVLRSQLGLWSSSPTDIESYIRPGCIILTVYLRLVESAWKELSDNM 502
*****

OsIR64_03p045980_prot    SSYLDKLLNSSTGNFWASGLVFMVRHQIAFMHNGQLMLDRPLANSAHHYCKILCVRPIA 600
LOC_0s03g61760.1_prot    SSYLDKLLNSSTGNFWASGLVFMVRHQIAFMHNGQLMLDRPLANSAHHYCKILCVRPIA 562
*****

OsIR64_03p045980_prot    APFSTKVNFRVEGLNLVSDSSRLICSFEGSCIFQEDTDNIVDDVEHDDIEYLNFCCLPLS 660
LOC_0s03g61760.1_prot    APFSTKVNFRVEGLNLVSDSSRLICSFEGSCIFQEDTDNIVDDVEHDDIEYLNFCCLPLS 622
*****

```

Figure S5. Clustal Omega protein alignment of OsSPL6 protein.

Amino-acid alignment of OsSPL6 protein between the genome sequences of IR64 and Nipponbare varieties was realized under Clustal Omega platform (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Dashe significates a missing amino-acid, "*" indicates it is the same amino-acid.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>			
MAI1	Malian strain race A3	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3	Burkinabe strain race A1	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3 Δ <i>talD</i> (EV)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	Lachaux et al., in prep
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i>)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	Lachaux et al., in prep
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i> Δ Δ AD)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> Δ Δ AD gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	This study
Plasmids			
pSKX1	Empty vector used for <i>talE</i> gene expression, in BAI3	Gentamicin	Streubel et al., 2013
<i>ptalD</i>	pSKX1 plasmid carrying <i>talD</i> used for the complementation of the BAI3 Δ <i>talD</i> mutant	Gentamicin	Lachaux et al., in prep
<i>ptalD</i> Δ Δ AD	pSKX1 plasmid carrying <i>talD</i> Δ Δ AD used for the transformation of the BAI3 Δ <i>talD</i> mutant	Gentamicin	Lachaux et al., in prep

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

Gène <i>avr</i>	Protéine <i>Avr</i>	Gène <i>R</i>	Caractéristique	Protéine <i>R</i>	Hôte	Pathogène	Référence
<i>pthXo1 / tal4 / tal9d</i>	Effecteur TAL	<i>Xa1</i> et ses allèles (<i>Xo1</i> , <i>Xa2</i> , <i>Xa14</i> , <i>Xa31</i> , <i>Xa45</i>)	NB-LRR reconnaît les TALE indépendamment de leur séquence en RVD	Protéine NB-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Yoshimura et al. 1998; Triplett et al. 2016; Zhang et al. 2020; Ji et al. 2020)
<i>avrxa5 / pthXo7</i>	Effecteur TAL	<i>xa5</i>	Allèle de perte de S	Facteur de transcription TFIIA γ	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Jian.get et al. 2006; Sugio et al. 2007; Zou et al. 2010)
<i>pthXo1</i>	Effecteur TAL	<i>xa13</i> (<i>OsSWEET11</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Chu et al. 2006; Yang et al. 2006)
<i>pthXo2</i>	Effecteur TAL	<i>xa25</i> (<i>OsSWEET13</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Liu et al. 2011; Zhou et al. 2015)
<i>avrXa7 / pthXo3 / talC / talF_{MAII}</i>	Effecteur TAL	<i>xa41</i> (<i>OsSWEET14</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Antony et al. 2010; Yu et al. 2011; Streubel et al. 2013; Hutin et al. 2015)
<i>avrXa7 / pthXo3</i>	Effecteur TAL	<i>Xa7</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire, putative	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Chen et al. 2021; Luo et al. 2021)
<i>avrXa10</i>	Effecteur TAL	<i>Xa10</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire localisée au niveau du RE	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Tian et al. 2014)
<i>avrXa23</i>	Effecteur TAL	<i>Xa23</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire, putative	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Wang et al. 2015a)
<i>avrXa27</i>	Effecteur TAL	<i>Xa27</i>	Gène exécuteur	Protéine sécrétée dans l'apoplaste	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Zhang et al. 2015)
<i>TalI</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Lachaux et al. in prep)
<i>TalD</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Lachaux et al. in prep)
<i>avrXa3</i>	Effecteur TAL	<i>Xa3/Xa26</i>		récepteur RLK-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Li et al. 2004; Sun et al. 2004; Xiang et al. 2006)
<i>RaxX</i>	Peptide sulfaté	<i>Xa21</i>		récepteur RLK-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Pruitt et al. 2015)
Inconnu	Indéterminée	<i>Xa4</i>		Kinase associée à la paroi cellulaire / famille de récepteur RLK	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Hu et al. 2017)
<i>avrBs4C</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4C-R</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire localisée au niveau du RE	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Strauss et al. 2012)
<i>avrBs1</i>	Protéine de 50 kDa	<i>Bs1</i>	Résistance aux races 0, 2 et 5	Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Cook and Guevara 1984; Ronald and Staskawicz 1988) (Escolar et al. 2001)
<i>avrBs2</i>	Protéine avec un domaine glycérolphosphodiesterase (GDE) conservé	<i>Bs2</i>	Résistance aux races 0 à 3, 7 et 8	Protéine NB-LRR	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Minsavage 1990; Tai et al. 1999)
<i>avrBs3</i>	Effecteur TAL	<i>Bs3</i>	Gène exécuteur / Résistance aux races 0, 1, 4, 7 et 9	Protéine de la famille des " flavin-dépendant mono-oxygenase", sous-classe YUCCA, putative	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Bonas et al. 1989; Römer et al. 2007)
<i>avrHah1</i>	Effecteur TAL	<i>Bs3</i>	Gène exécuteur	Protéine de la famille	Poivron	<i>X. gardneri</i>	(Römer et al. 2007;

				des " flavin-dependant mono-oxygenase", sous-classe YUCCA, putative			Schornack et al. 2008)
Inconnu	Indéterminée	<i>bs5 / bs6</i>	Résistances récessives, combinées donne résistance complète aux races 0 à 10	Non déterminées	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Vallejos et al. 2010)
<i>avrBsT (xopJ2)</i>	Protéine de 39 kDa	<i>BsT</i>		Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Escolar et al. 2001)
<i>avrBs7</i>	Effecteur <u>Xop</u>	<i>Bs7</i>		Protéine avec un domaine tyrosine-phosphatase	Poivron	<i>X. gardneri</i>	(Potnis et al. 2012)
<i>avrBs1,1</i> (homologue <i>avrBs7</i>)	Effecteur Xop	Possiblement <i>Bs7</i>		Protéine avec un domaine tyrosine-phosphatase	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Potnis et al. 2012)
<i>avrRxv (xopJ4)</i>	Effecteur de la famille XopJ	Inconnu		Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Osdaghi et al. 2021)
<i>avrXv4 (XopJ4)</i>	Effecteur de la famille XopJ	Inconnu		Non déterminée	Tomate	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>perforans</i>	(Osdaghi et al. 2021)
<i>avrBs4</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Bonas et al. 1993; Schornack et al. 2004)
<i>hax3</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. campestris</i> pv. <i>armoraciae</i>	(Schornack et al. 2004; Kay et al. 2005)
<i>hax4</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. campestris</i> pv. <i>armoraciae</i>	(Schornack et al. 2004; Kay et al. 2005)
<i>pthA4^{AT}</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Agrumes	<i>X. citri</i> pv. <i>citri</i>	(Roeschlin et al. 2019)
<i>avrGf1/avrGf2</i>	Effecteur de la famille XopAG	Inconnu		Non déterminée	Agrumes	<i>X. citri</i> pv. <i>citri</i>	(Ri et al. 2018)
<i>avrXg1</i>	Effecteur TAL	Inconnu	Donne résistance à la race 3	Non déterminée	Soja	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>	(Athinuwat et al. 2009)

Tableau 5. Gènes d'avirulence et gènes de résistance au sein du genre *Xanthomonas* chez différents pathosystèmes.

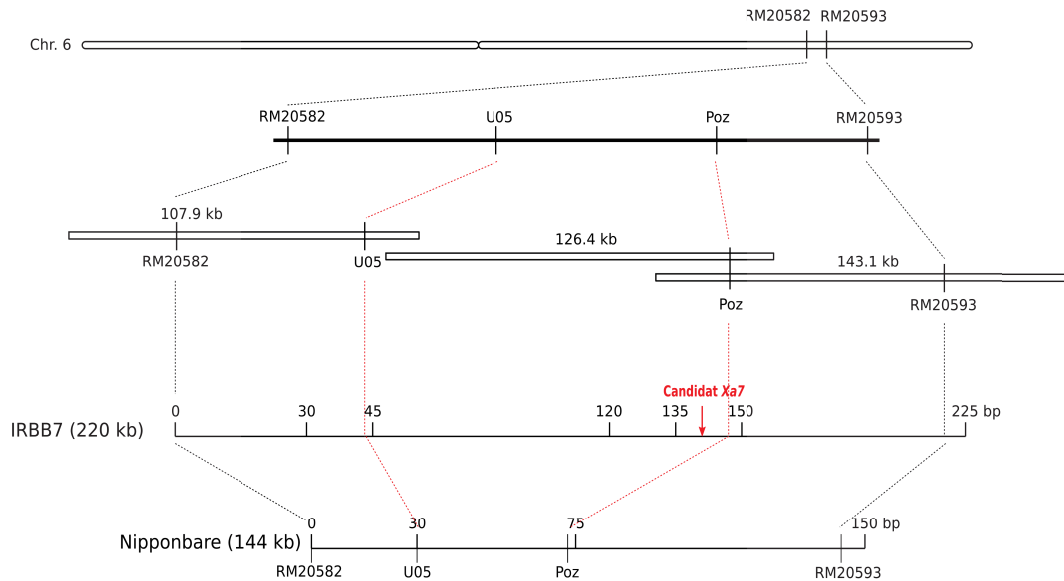


Figure 22. Cartographie fine du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Wang et al. 2021).

Les lignes verticales représentent les sites des principaux marqueurs de la carte physique. Les contigs BAC IRBB7 sont représentés par des rectangles non remplis qui se chevauchent. La région entre les lignes pointillées rouges représente la région *Xa7* cartographiée, qui est flanquée par les marqueurs U05 et Poz.

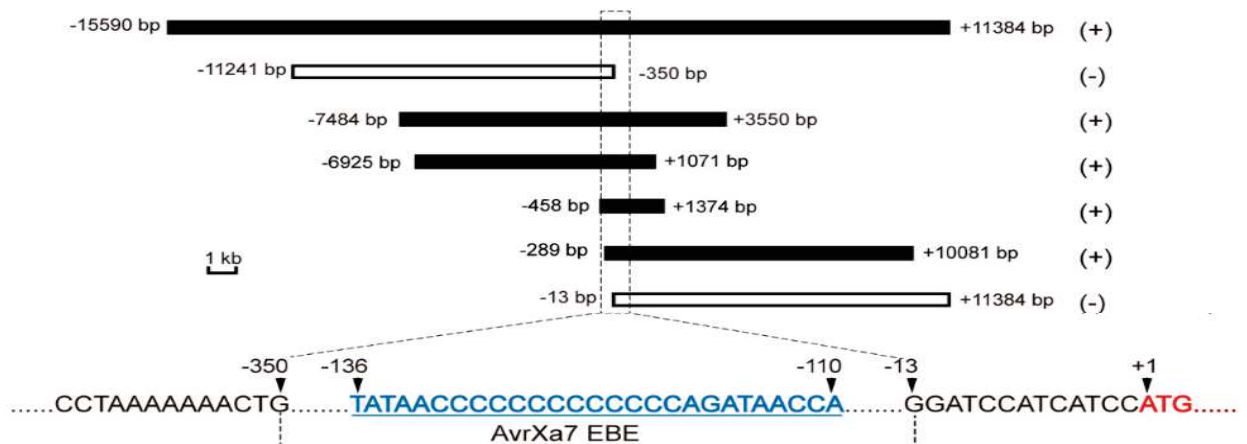


Figure 23. Complémentation fonctionnelle du gène candidat *Xa7*. D'après (Wang et al. 2021).

Les sous-clones TAC utilisés pour la transformation du riz sont indiqués par des rectangles vides et remplis. Les rectangles vides représentent les sous-clones générant des lignées transgéniques sensibles, tandis que les rectangles pleins représentent les sous-clones générant des lignées transgéniques résistantes. Les informations positionnelles des fragments insérés sont indiquées à côté des rectangles. Les chiffres négatifs indiquent une distance en amont du site d'initiation du codon ATG pour le gène candidat, tandis que les chiffres positifs indiquent une distance en aval de celui-ci. Les sous-clones qui ont produit un riz transgénique résistant à la BLB sont marqués par (+), sinon par (-).

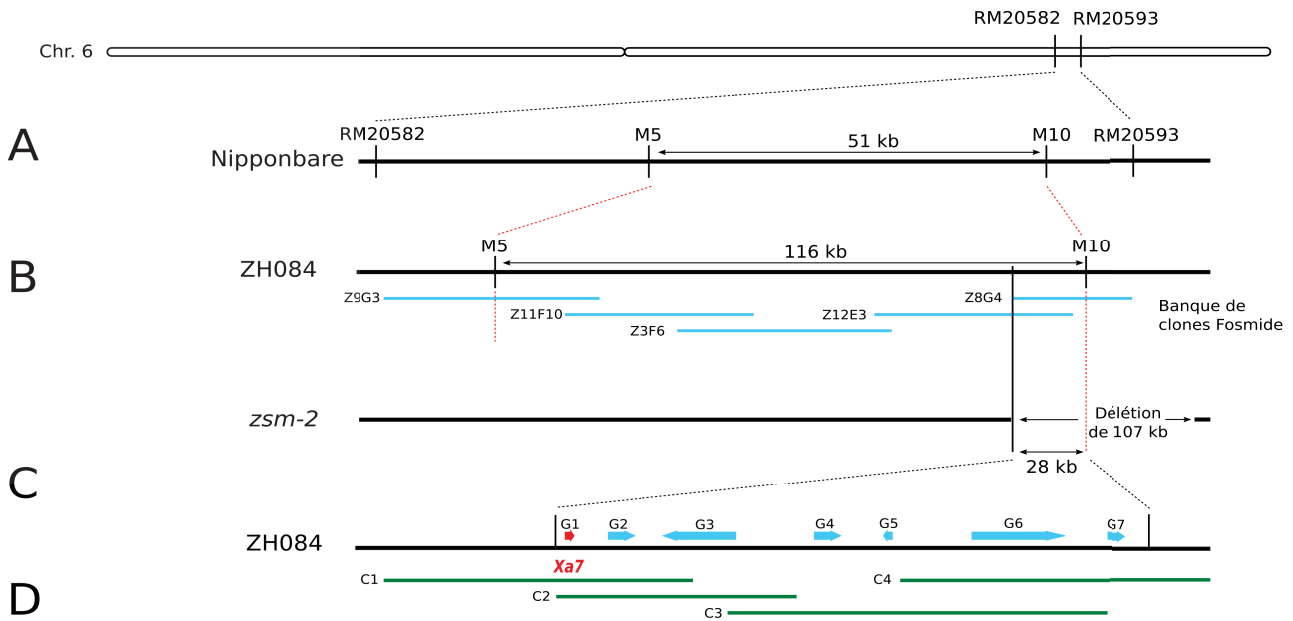


Figure 24. Clonage positionnel du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Chen et al. 2021).

(A) Carte physique de la région contenant *Xa7* sur le chromosome 6 du riz basée sur le génome de référence de Nipponbare. (B) Carte physique de la région contenant *Xa7* basée sur la variété de riz Zhen-hui 084 (ZH084). La carte a été construite en utilisant des contigues de clones isolés à partir de la bibliothèque génomique de la variété correspondante. (C) La région de chevauchement de 28 kb entre la région de cartographie de *Xa7* de 116 kb et la délétion de 107 kb dans un mutant sensible à la BLB, *zsm-2*, dont le fond génétique est celui de la variété ZH084. Les gènes prédits (G1 à G7) dans la région de chevauchement de 28 kb. (D) Les positions des quatre fragments (C1 à C4) utilisés pour la transformation de complémentation fonctionnelle dans Zhonghua 11 (ZH11), variété sensible à la BLB.

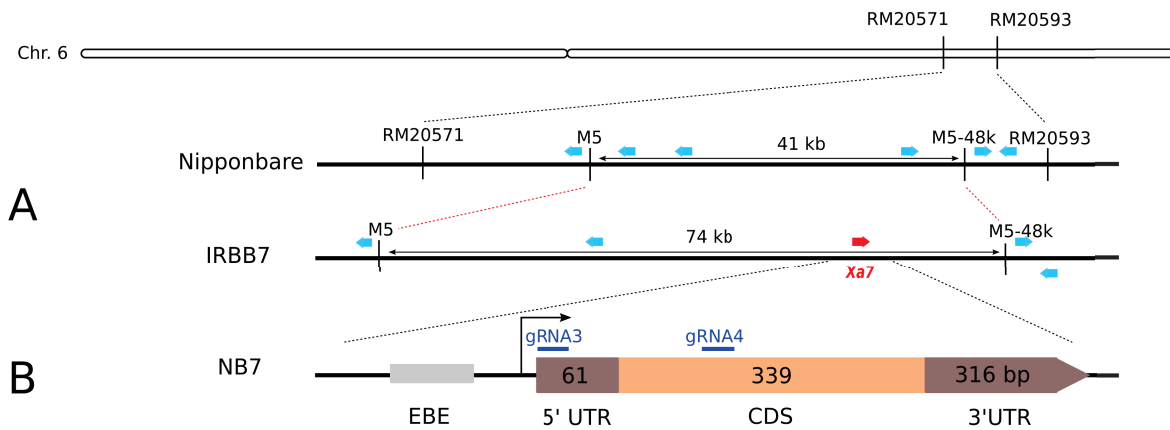


Figure 25. Cartographie fine et identification du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Luo et al. 2021).
 (A) Carte physique du locus *Xa7* et des marqueurs associés sur le chromosome 6. Régions génomiques délimitées par deux marqueurs (M5 et M5-48k) dans Nipponbare et IRBB7. Les gènes annotés dans Nipponbare et IRBB7 sont indiqués par des flèches bleues, et par une flèche rouge pour le gène candidat *Xa7*. (B) Représentation schématique de *Xa7*. La structure du gène est représentée par une boîte cible (EBE) pour Avr*Xa7*, un 5' UTR pour la région non traduite 5', 3' UTR pour la région non traduite 3', puis la séquence codante (CDS).

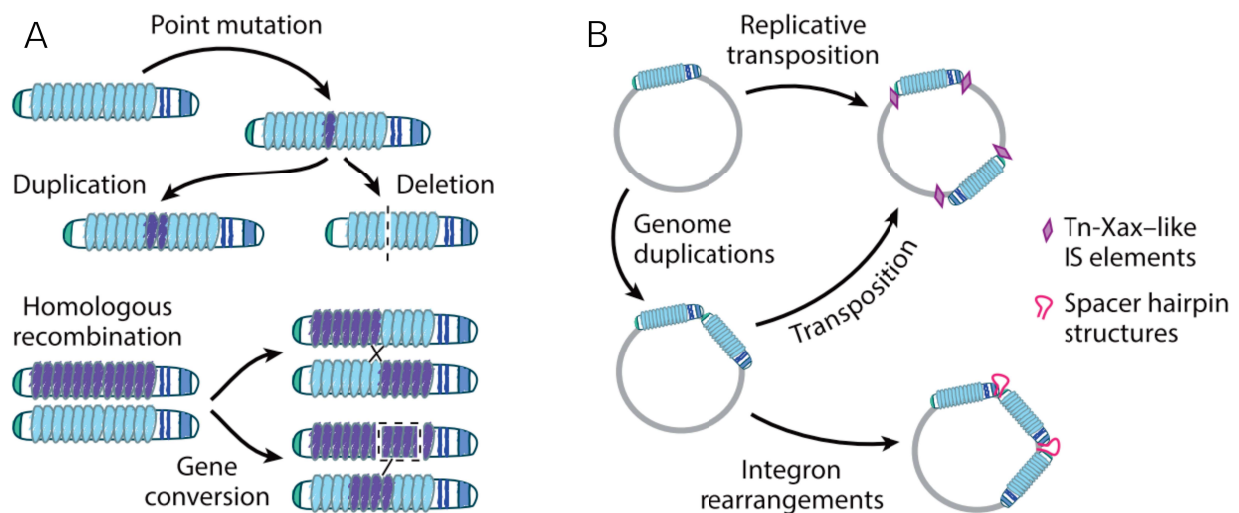


Figure 26. Mécanismes d'évolution des effecteurs TAL. D'après (Perez-Quintero and Szurek 2019)
 (A) Mécanismes décrits générant une variation de la séquence de répétition dans les TALE. (B) Représentation des mécanismes décrits générant des réarrangements génomiques des TALE. Séquence d'insertion (IS).

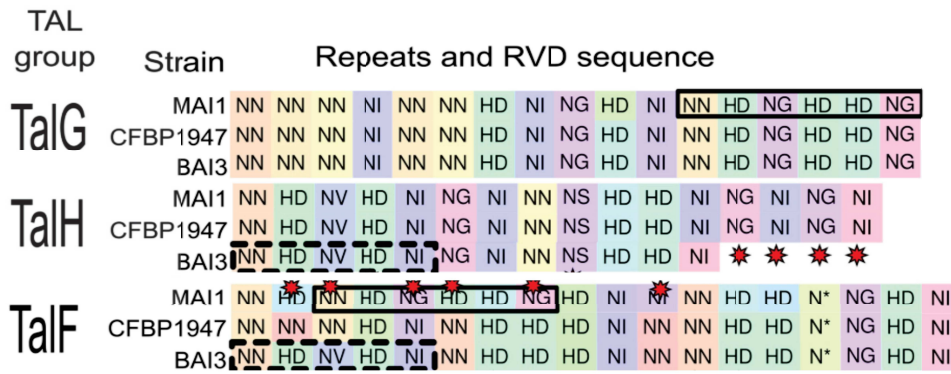


Figure 27. Recombinaison de RVD entre les effecteurs TAL des souches MAI1 et BAI3. D'après (Tran et al. 2018)

Les séquences RVD sont indiquées pour chaque variante d'effecteur TAL de chaque souche. Les couleurs de fond pour les RVD représentent des séquences répétées de nucléotides uniques, et les couleurs similaires indiquent des séquences répétées similaires au niveau des nucléotides, comme déterminé par l'alignement Needleman-Wunsch. Les étoiles rouges indiquent les polymorphismes des RVD au sein d'un locus. Les rectangles à lignes pleines mettent en évidence les répétitions partagées par TalF_{MAI1} et TalG_{MAI1}. Les rectangles en pointillés mettent en évidence les répétitions communes à TalF_{BAI3} et TalH_{BAI3}.

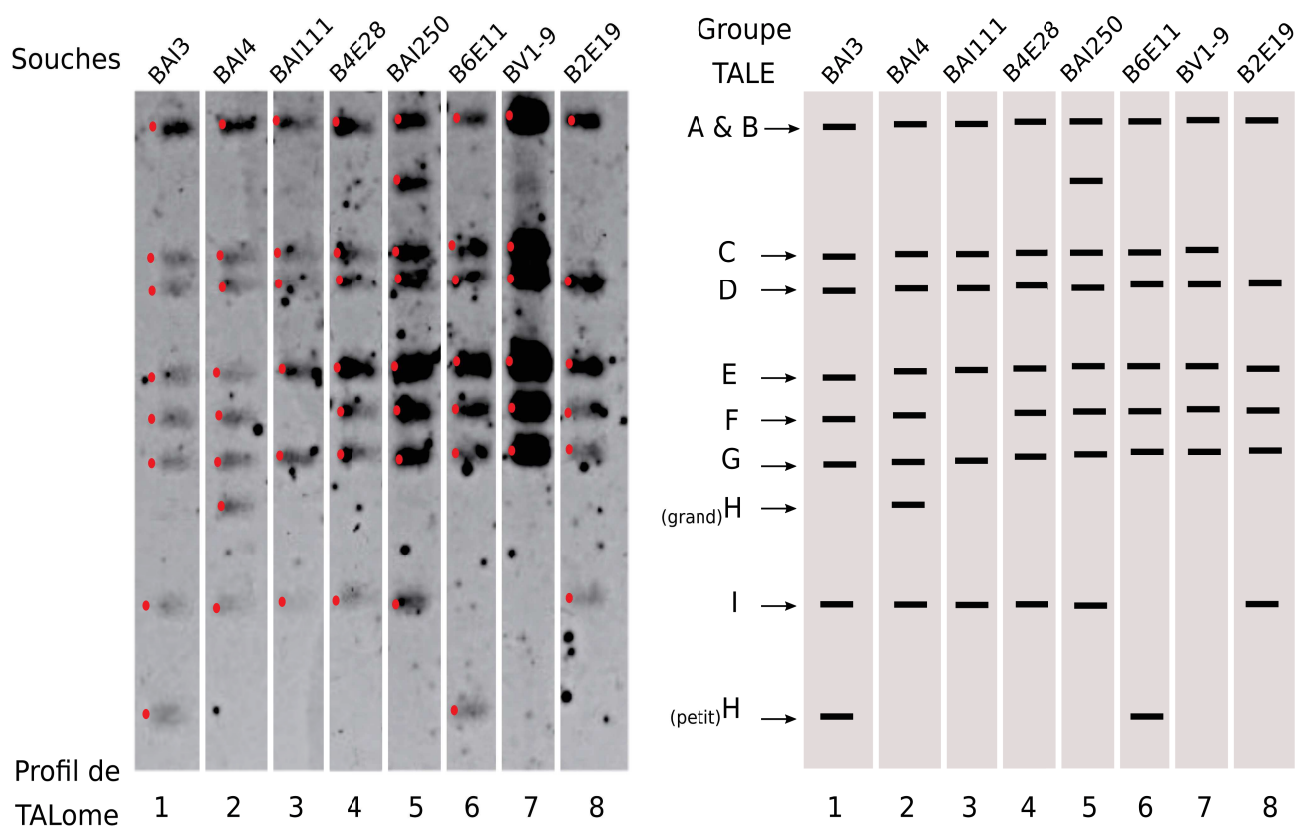


Figure 28. Les différents profils TAL-RFLP identifiés au sein de la collection CIX de l'IRD. D'après (Diallo et al. in prep)

L'ADN des souches a été digéré avec l'enzyme BamHI-HF coupant au niveau de séquences conservées en 3' et 5' de chaque TALE, de part et d'autre de la région centrale des répétitions. La sonde utilisée comporte la séquence codante de la région C-terminale du TalA de BAI3. Cette séquence étant très conservée chez les TALE ; la sonde s'hybride donc théoriquement avec tous les TALE.

Remerciements

Tout d'abord je souhaiterais remercier mes deux encadrants, Boris SZUREK et Mathilde HUTIN, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse. Cela fait maintenant plus de 3 ans que l'on se connaît, et au cours de ces dernières années j'ai beaucoup appris grâce à vous deux. **Boris**, merci de m'avoir pris sous ton aile dès mon stage de master 2, où je n'étais encore qu'une novice dans le monde de la science, et de m'avoir transmis ton savoir. Je te remercie du temps que tu m'as accordé et de ta bienveillance. **Mathilde**, avec toi une confiance mutuelle s'est instaurée petit à petit et je suis heureuse de voir comment les choses ont évolué entre nous. Je te remercie de m'avoir accompagné jusqu'ici, de m'avoir aidé tout au long de ce chemin, parfois semé d'embûches il faut le dire.

Ensuite, je remercie les membres de mon jury : Alia DELLAGI, Roland KÖLLIKER, Claire NEEMA, Nicolas CHEN et Laurence ALBAR, pour leur présence, leur temps et pour leur retour sur mon manuscrit.

Merci à tous les membres de mon équipe (XPLAIN) sans qui cette expérience n'aurait pas été la même : Florence, Lionel, Ralf, Sébastien; à mes copains de travail, qui pour certains sont devenus de vrais amis, d'avoir égayé mes moments de labo : Coline, Carlos, Carolina, Gabriel, Valentine, Dario, Senne, Laurent. Une petite pensée particulière à Leonor et Angeliki; jamais je n'aurai pensé en si peu de temps créer des liens aussi forts et garder ce lien même à distance et sur différents fuseaux horaires ! Merci pour tout le soutien que vous m'avez apporté pendant cette dernière année de thèse. Vous êtes merveilleuses, et je vous aime.

Merci à Clotilde, Cécile et Nathalie, vous êtes des femmes fantastiques, ne changez jamais. Ces moments café, accompagnés de petits gâteaux et de discussions, m'ont été d'un grand réconfort.

Merci à Mathias, à Julie, à Ndomassi, et à Alvaro pour m'avoir aidé dans mes analyses (bioinformatique, génétique, cartographie, ...), et pour les moments conviviaux passés ensemble.

Un merci à l'équipe ABIP/BRIO, merci à chacun d'entre vous (Gilles, Lionel, Pierre, Adrian, Eoghan, Ludivine, Nicolas, Isabelle) pour avoir partagé avec moi vos points de vue, perspectives de travail, et quelques verres aussi.

Merci à tous les doctorant.e.s avec qui j'ai passé ces 3-4 dernières années: Juliette, Lison, Fanni, Théo, Léo Paul, Anne-Sophie, Adrian, Eoghan; mais aussi aux autres gens du labo (ou pas) comme Fiona, Marie, Helena, Justine, et bien d'autres encore.

Merci à Sandrine F. de m'avoir pris sous ton aile lors de mon M2. Merci à Audrey V. pour tous les conseils que tu as pu me donner au cours de ces années. Merci à Morgane C. et à Nelly F. , qui ont apportés joie et bonheur à la fin de ma thèse. Morgane, mon double, merci de m'avoir rappelé que j'étais capable de tout. Nelly, je te souhaite plein de courage pour la fin de ta thèse, tu vas tout déchirer !

Je voudrais dire merci à toutes les personnes, encore présentes à l'IRD et celles qui ne le sont plus, qui m'ont sourit dans les couloirs, qui m'ont aidées dans mes travaux de recherche, toutes les personnes qui m'ont soutenues jusqu'au bout.

Merci à ma meilleure amie Jessy, qui même à distance était disponible H24, pour m'entendre raconter ma vie, râler, pleurer, etc. Merci de ton soutien sans faille. Comme dirait quelqu'un de

sûrement connu : "Une meilleure amie c'est une sœur que la vie a oublié de nous donner", alors même si j'en ai déjà 2, une 3e sœur n'a jamais été de refus; je t'aime.

Pour finir, je pense qu'il est essentiel de remercier ma famille, et sans vouloir trop sembler mélodramatique... vous êtes ma force au quotidien, mon soutien à toute épreuve, et je sais que je suis chanceuse de vous avoir à mes côtés. Merci d'avoir cru en moi jusqu'au bout et de m'avoir soutenue, je vous aime.

Acknowledgments

First of all I would like to thank my two supervisors, Boris SZUREK and Mathilde HUTIN, for giving me the opportunity to do this PhD. We have known each other for more than 3 years now, and during these last years I have learned a lot thanks to you both. **Boris**, thank you for taking me under your wing during my master 2 internship, when I was still a novice in the world of science, and for passing on your knowledge. I thank you for the time you gave me and for your kindness. **Mathilde**, with you a mutual trust has been established little by little and I am happy to see how things have evolved between us. I thank you for having accompanied me until now, for having helped me along this path, sometimes full of pitfalls it must be said.

Then, I thank the members of my jury: Alia DELLAGI, Roland KÖLLIKER, Claire NEEMA, Nicolas CHEN and Laurence ALBAR, for their presence, their time and for their feedback on my manuscript.

Thanks to all the members of my team (XPLAIN) without whom this experience would not have been the same: Florence, Lionel, Ralf, Sébastien; to my work mates, some of whom have become real friends, for having brightened up my lab moments: Coline, Carlos, Carolina, Gabriel, Valentine, Dario, Senne, Laurent.

A special thought to Leonor and Angeliki; I would never have thought in such a short time to create such strong links and to keep this link even at distance and on different time zones ! Thank you for all the support you have given me during this last year of my thesis. You are wonderful, and I love you.

Thanks to Clotilde, Cécile and Nathalie, you are fantastic women, never change. These coffee moments, accompanied by small cakes and discussions, were a great comfort to me.

Thanks to Mathias, Julie, Ndomassi, and Alvaro for helping me in my analyses (bioinformatics, genetics, cartography, ...), and for the convivial moments spent together.

Thanks to the ABIP/BRIO team, thanks to each of you (Gilles, Lionel, Pierre, Adrian, Eoghan, Ludivine, Nicolas, Isabelle) for sharing with me your points of view, work perspectives, and some drinks too.

Thanks to all the PhD students with whom I spent the last 3-4 years: Juliette, Lison, Fanni, Théo, Léo Paul, Anne-Sophie, Adrian, Eoghan; but also to the other people of the lab (or not) like Fiona, Marie, Helena, Justine, and many others.

Thanks to Sandrine F. for taking me under your wing during my M2. Thank you to Audrey V. for all the advice you gave me during these years. Thanks to Morgane C. and Nelly F. who brought joy and happiness at the end of my thesis. Morgane, my double, thank you for reminding me that I was capable of anything. Nelly, I wish you a lot of courage for the end of your thesis, you are going to tear it up!

I would like to say thank you to all the people, still present at IRD and those who are no longer, who smiled at me in the corridors, who helped me in my research work, all the people who supported me until the end.

Thank you to my best friend Jessy, who even from distance was available H24, to hear me tell my life story, to grumble, to cry, etc. Thank you for your unfailing support. As someone famous would

say: "A best friend is a sister that life forgot to give us", so even if I already have 2, a 3rd sister was never a bad thing; I love you.

Finally, I think it is essential to thank my family, and without wanting to sound too melodramatic... you are my daily strength, my support at all times, and I know I am lucky to have you by my side. Thank you for believing in me until the end and for supporting me, I love you.

Résumé

La bactériose vasculaire du riz, causée par la bactérie à gram-négatif *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), est une des maladies les plus dévastatrices des cultures de riz en Afrique de l'Ouest et en Asie. Grâce à son système de sécrétion de type III, *Xoo* injecte ses effecteurs de type TAL ("Transcription Activator-Like") au sein de la cellule végétale hôte. Grâce à leurs signaux de localisation nucléaire (NLS), les TALE sont ensuite importés au noyau où ils ont la capacité de se fixer, par le biais de leur région centrale composée de répétitions en tandem, au promoteur d'un gène hôte au niveau d'une séquence appelée EBE (pour "Effector Binding Element"), et d'initier la transcription via leur domaine d'activation (AD). *Xoo* est ainsi capable de moduler l'expression des gènes de la plante en détournant sa machinerie transcriptionnelle et d'induire des gènes dits de sensibilité (*S*) qui favorisent le développement de la bactérie et donc de la maladie. Dans certains cas, les TALE peuvent activer des gènes dits exécuteur (*E*) dont l'expression entraîne des réactions de défenses de la plante et provoque la résistance. Des analyses de diversité génétique ont montré que *Xoo* comprend deux lignées correspondant aux souches Africaines et Asiatiques. Elles se distinguent notamment par le nombre de gènes *tal* qu'elles possèdent, mais aussi par le type de résistance qu'elles élicitent. De fait, aucune des races identifiées en Afrique n'a été retrouvée en Asie.

L'objectif de cette thèse était d'identifier des sources de résistance chez le riz afin d'apporter de nouvelles stratégies de contrôle de la bactériose vasculaire du riz en Afrique. Des analyses préliminaires avaient permis de mettre en évidence par une approche de gain-de-fonction, plusieurs TALE de la souche Malienne MAI1 ayant une activité potentielle d'avirulence sur les variétés de riz IR64, CT13432 et FKR47N. Afin de confirmer ces résultats, une approche par perte-de-fonction a été entreprise, consistant à cribler une banque de mutants BAI3 Δ *tal* générés dans la souche Burkinabè BAI3, dont le TALome (répertoire de gènes *tal*) est très proche de celui de MAI1, sur chacune des trois variétés résistantes. Ces travaux ont permis de valider le rôle d'avirulence de TalD et TalI sur les variétés IR64 et CT13432, respectivement. Il a également été démontré que la résistance de CT13432 aux souches MAI1 et BAI3 résultait de la combinaison de deux mécanismes de résistance, l'un reposant sur l'induction, médiée par TalI, d'un gène exécuteur encore inconnu, et l'autre sur un allèle du gène de résistance *Xa1*. Dans un second temps, afin d'approfondir nos connaissances sur la résistance conférée par IR64 aux souches Africaines de *Xoo*, le criblage d'une population de lignées recombinantes de génération F₁₁, provenant du croisement entre la variété résistante IR64 et la variété sensible Azucena, a été mené. Cette étude a permis de confirmer deux QTL, *qABB-7* et *qABB-11*, préalablement rapportés dans une autre étude, et d'identifier quatre nouveaux QTL de résistance aux souches Africaines de *Xoo*. Pour finir, des analyses de type RNAseq ont été réalisées sur la variété résistante IR64 et la variété sensible Nipponbare, dont les génomes séquencés sont disponibles, afin de caractériser leur transcriptome en réponse à des souches Africaines de *Xoo*. L'activité d'avirulence de TalD chez IR64 ayant été démontrée, une comparaison de l'expression différentielle des gènes induits par MAI1 et BAI3 avec le mutant BAI3 Δ *talD* a été effectuée, permettant d'identifier de potentiels gènes *E* candidats expliquant la résistance TalD-dépendante de IR64. Ces travaux représentent une première étape dans le développement de nouvelles stratégies basées sur le déploiement de sources de résistance durables afin de lutter contre la bactériose vasculaire du riz en Afrique.

Abstract

Bacterial Leaf Blight (BLB), caused by the gram-negative bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), is one of the most devastating diseases of rice in West Africa and Asia. *Xoo* injects through its type-III secretion system a full cocktail of TAL ("Transcription Activator-Like") effectors into the host plant cell. By means of their nuclear localization signals (NLS) TALEs are next imported into the host nucleus where they bind through central tandem repeats to host promoter targets at a sequence called EBE ("Effector Binding Element"), with the final aim of initiating gene transcription thanks to their activation domain (AD). *Xoo* is thus able to modulate the expression of plant genes by hijacking the plant transcriptional machinery and induce so-called susceptibility (*S*) genes that favor the development of the bacterium and disease consequently. In some cases, TALEs can activate so-called executor (*E*) genes whose expression leads to plant defense reactions and results in resistance. Genetic diversity analyses have shown that *Xoo* is comprised of two lineages corresponding to strains from Africa for one and Asian strains for the other. African and Asian *Xoo* differ in their number of *tal* genes, but also in the type of resistance they elicit. Noteworthy, none of the races identified in Africa have been found in Asia.

The objective of this thesis was to identify sources of resistance in rice in order to provide new strategies for the control of BLB in Africa. In a gain-of-function approach, preliminary analyses identified several TALEs of the Malian strain MAI1 with potential avirulence activity on the rice varieties IR64, CT13432 and FKR47N. To further confirm these results, a loss-of-function approach was undertaken, consisting in the inoculation of a library of BAI3 Δ *tal* mutants deriving from the *Xoo* Burkinabe strain BAI3, whose TALome (*tal* genes repertoire) is very similar to that of MAI1, on each of the three resistant varieties. This work validated the avirulence role of TalD and TalI on the matching rice varieties IR64 and CT13432, respectively. We also showed that the resistance exhibited by CT13432 against MAI1 and BAI3 results of the combination of two resistance mechanisms, one based on the TalI-mediated induction of an as yet unknown executor gene, and the other on an allele of the *Xa1* resistance gene. In a second step, in order to deepen our knowledge on the resistance conferred by IR64 to African *Xoo* strains, the screening of a population of recombinant inbred lines of F₁₁ generation, resulting from the cross between the resistant variety IR64 and the susceptible variety Azucena, was conducted. This study confirmed two QTL, *qABB-7* and *qABB-11*, previously reported in another study, and also identified four new QTL of resistance against African *Xoo* strains. Finally, RNAseq analyses were performed on the resistant variety IR64 and the susceptible variety Nipponbare, which genomes are sequenced, to characterize their transcriptome in response to African *Xoo*. The avirulence activity of TalD in IR64 being demonstrated, a comparison of the differential expression of genes induced by MAI1 and BAI3 with the BAI3 Δ *talD* mutant was performed, allowing the identification of potential candidate *E*-genes induced by TalD in IR64. This work represents a first step in the development of new strategies based on the deployment of sustainable sources of resistance to control BLB in Africa.

Table des figures

Figure 1. Modèle en Zig-Zag de coévolution des gènes de résistance de plantes et des effecteurs d'agents pathogènes.....	v
Figure 2. Reconnaissance des bactéries par les PRRs (Plant Pattern-Recognition Receptors).....	vi
Figure 3 . Structures des récepteurs NB-LRRs chez les plantes.....	vii
Figure 4. Deux modèles de liaison ATP/ADP des NB-LRRs chez les plantes.....	vii
Figure 5. Trois modèles de reconnaissance des effecteurs par les NB-LRRs des plantes.....	viii
Figure 6. Analyse par "single marker regression" (SMR) d'un caractère hypothétique dans une population F ₂ simulée de 100 individus.....	ix
Figure 7. Avantage de l'analyse "simple interval mapping" (SIM) par rapport au SMR.....	x
Figure 8. Production et superficie mondiales de riz paddy entre 2009 et 2018.....	xi
Figure 9. Production et importation du riz en Afrique de l'ouest.....	xi
Figure 10. Schéma de l'origine du riz domestiqué d'après (Civan et al. 2015).....	xii
Figure 11. Les structures de surface des bactéries participant à leur pouvoir pathogène.....	xiii
Figure 12. Représentation schématique d'un système de sécrétion de type III (SST3) présent chez les bactéries phytopathogènes (Buttner and He 2009).....	xiv
Figure 13. Représentation schématique des systèmes de sécrétions présents chez <i>Xanthomonas</i> spp. (Buttner and Bonas 2009).....	xv
Figure 14. Structure type d'un effecteur TAL de <i>Xanthomonas</i>	xv
Figure 15. Modèle de la spécificité de l'interaction de l'ADN-cible et des TALE.....	xvi
Figure 16. Effecteurs TAL de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> en interaction avec la cellule végétale..	xviii
Figure 17. Gènes OsSWEET du riz répartis en cinq clades en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre.....	xix
Figure 18. Convergence fonctionnelle des effecteurs bactériens TAL dans différents pathosystèmes et leurs cibles végétales.....	xx
Figure 19. Symptômes typiques provoquées par Xoo et Xoc sur le riz, et leur localisation cellulaire lors de l'infection.....	xxii
Figure 20. "Minimum spanning tree" d'une collection mondiale de <i>Xanthomonas oryzae</i>	xxiii
Figure 21. Représentation et alignement des séquences en RVD des TALE des souches Africaines MAI1, BAI3 et CFBP1947 de Xoo.....	xxiv
Figure 22. Cartographie fine du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Wang et al. 2021).....	lxxxix
Figure 23. Complémentation fonctionnelle du gène candidat <i>Xa7</i> . D'après (Wang et al. 2021).....	lxxxiv
Figure 24. Clonage positionnel du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Chen et al. 2021).....	lxxxv
Figure 25. Cartographie fine et identification du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Luo et al. 2021).....	lxxxvi
Figure 26. Mécanismes d'évolution des effecteurs TAL. D'après (Perez-Quintero and Szurek 2019)..	lxxxvi
Figure 27. Recombinaison de RVD entre les effecteurs TAL des souches MAI1 et BAI3. D'après (Tran et al. 2018).....	lxxxvii
Figure 28. Les différents profils TAL-RFLP identifiés au sein de la collection CIX de l'IRD. D'après (Diallo et al. in prep).....	lxxxviii

Article 1

Figure 1. BAI3 Δ talD loses avirulence on IR64 but BAI3 Δ talI and BAI3 Δ talF do not on CT13432 and FKR47N.....	xxviii
Figure 2. The resistance of CT13432 and FKR47N against African Xoo is largely suppressed by a truncTALE.....	xxix
Figure 3. The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of Xa1.....	xxx
Figure 4. Suppression of Xa1-like resistance unmasks TalI avirulence activity in the rice variety CT13432.....	xxxii
Fig. S1 Western-blot analysis of PXO99A Xoo transformant total protein extracts using an anti-TALE antibody.....	xxxiii
Figure S2. Molecular characterization of a library of BAI3 Δ tal mutant strains.....	xxxiii
Figure S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with BAI3 Δ talI and BAI3 Δ talF mutants.....	xxxiv
Figure S4. The tal2h truncTALE reveals Xa1-like resistance against the Xoo strain BAI3 in several rice varieties.....	xxxv
Figure S5. Western-blot analysis of Xoo total protein extracts using an anti-TALE antibody.....	xxxv

Article 2

Figure 1. Lesion lengths distribution in the F11 population following inoculation with African and Asian strains of Xoo.....	xli
Figure 2. Density curve of the lesion lengths of the F11 population following inoculation with African and Asian Xoo strains.....	xlii
Figure 3. RVD sequences comparison of the TALome of Xoo strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3....	xliv
Figure 4. Linkage of an avirulent TALE to the QTL on chromosome 11 conferring resistance to African Xoo strains.....	xlvi
Figure 5. Evaluation of the resistance of IR64 upon inoculation of a set of African Xoo strains displaying diverse talD allelic variants.....	xlvii
Figure 6. Fine mapping of the QTL interval on chromosome 11.....	xlix
Figure S1. Graphic representation of the QTL peaks revealed by the inoculation of MAI1, BAI3 and PXO99A.....	l
Figure S2. Synteny of chromosomes 7 and 11 between Azucena and IR64.....	li
Figure S3. Amino-acid alignment of the four candidate genes in the overlapped region.....	lii

Article 3

Figure 1. Phenotypic characterization of TalD avirulence factor on the IR64 rice variety.....	lxvii
Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries.....	lxviii
Figure 3. Differential gene expression of OsSWEET14 in Nipponbare and IR64 rice varieties.....	lxix

Figure 4. Venn diagram of differential expressed genes in IR64 and Nipponbare, upon the inoculation of MAI1, BAI3 and the BAI3 Δ talD(EV) mutant strains.....	lxx
Figure S1. Western blot of total protein extracts of Xoo using an anti-TALE polyclonal antibody.....	lxxvi
Figure S2. Induction of the susceptibility (S) gene OsSWEET14 in the RNA samples.....	lxxvii
Figure S3. Up- and down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in Nipponbare.....	lxxviii
Figure S4. Down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in IR64.....	lxxix
Figure S5. Clustal Omega protein alignment of OsSPL6 protein.....	lxxx

Table des tableaux

Tableau 1. Modèle de l'interaction "gène-pour-gène", selon Flor (1955).....	vi
Tableau 2. Nombre de gènes SWEET au sein de certaines espèces du règne des Plantae.....	xvii
Tableau 3. Races de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> Africaines sur 12 lignées de riz quasi-isogéniques (NILs) contenant un seul gène de résistance dans le fond génétique IR24.....	xxi
Tableau 4. Gènes de résistance à Xoo (R et E) connus à ce jour.....	xxvi
Tableau 5. Gènes d'avirulence et gènes de résistance au sein du genre <i>Xanthomonas</i> chez différents pathosystèmes.....	lxxxiii

Article 1

Table 1. Four African TALEs mediate resistance when expressed in PXO99A on resistant varieties. .	xxvii
Table S1. Rice accessions screened for resistance to African Xoo strains MAI1, BAI3 and susceptibility to PXO99A.....	xxxvii
Table S2. Prevalence of Xa1-like activity in rice accessions resistant to African Xoo strains MAI1 and BAI3.....	xxxviii
Table S3. List of primers used in this study.....	xxxviii
Table S4. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	xxxix

Article 2

Table 1. Lesion lengths induced by African Xoo on recombinant inbred lines of the F ₁₁ generation and their parents.....	xl
Table 2. List of QTL revealed by the inoculation of African and Asian Xoo strains on the F ₁₁ IR64 x Azucena population.....	xliii
Table 3. Lesion lengths induced by African Xoo on recombinant inbred lines of the F ₃ generation and their parents.....	xlvii
Table S1. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	liii
Table S2. List of genes located in the QTL intervals on chromosomes 7 and 11, in IR64 and their orthologs in Azucena rice variety.....	lxvi

Article 3

Table 1. Common differentially expressed genes induced by BAI3 and MAI1.....	lxxi
Table 2. Genes in the QTL interval of qABB-11 with a binding site predicted for TalD.....	lxxii
Table 3. Differentially expressed genes located in the QTLs in IR64 revealed by MAI1 and BAI3.....	lxxiii
Table 4. List of candidate genes differentially expressed between BAI3 and mock conditions in IR64, located in <i>qABB-11</i>	lxxiv
Table 5. List of candidate genes involved in MAI1 and/or BAI3 resistance in IR64.....	lxxv
Table S1. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	lxxx

Table des matières

Remerciements.....	1
Acknowledgments.....	3
Résumé.....	5
Introduction générale.....	10
I. Généralités sur les interactions plantes - micro-organismes.....	10
1. Les différents types d'interactions.....	10
2. Les systèmes de défense de la plante.....	10
a) Les défenses constitutives.....	10
b) Les défenses induites : un système immunitaire inné à deux niveaux.....	11
i. Les défenses non-spécifiques : Pattern-Triggered Immunity "PTI".....	11
ii. Les défenses spécifiques: Effector-Triggered Immunity "ETI".....	14
3. Transduction du signal éliciteur.....	20
a) L'influx de Ca ²⁺	20
b) La production de ROS.....	21
c) Les MAP kinases.....	21
d) Les hormones végétales.....	22
4. Contournement de la résistance (ETS).....	24
II. Cartographie génétique et localisation de locus à effet quantitatif (QTL).....	25
1. Généralités sur la cartographie génétique.....	25
2. La détection de QTL.....	26
3. Les modèles d'analyses.....	28
III. Le riz.....	29
1. L'importance du riz dans le monde: une céréale majeure dans l'alimentation.....	29
2. Le genre <i>Oryza</i>	30
a) Généralités.....	30
b) Caractéristique des deux espèces cultivées.....	31
3. Les ressources génétiques et génomiques disponibles.....	32
a) Ressources génétiques.....	33
b) Ressources génomiques.....	36
c) Amélioration variétale.....	38
4. Les menaces des cultures de riz.....	40
a) Stress abiotiques.....	40
b) Stress biotiques.....	41
IV. Le genre <i>Xanthomonas</i>	42
1. Généralités.....	42
2. Génomique et <i>Xanthomonas</i>	42

3. Les déterminants du pouvoir pathogène.....	45
a) Les structures de surface des bactéries.....	45
b) Les systèmes de sécrétion.....	46
i. Le système de sécrétion de type 3.....	46
ii. Les autres systèmes de sécrétion.....	47
4. Les effecteurs TAL et non-TAL.....	48
V. L'interaction TALE-hôte.....	49
1. Structure des TALE.....	49
2. Mécanisme de reconnaissance TALE-ADN.....	50
3. La sensibilité à travers les TALE.....	51
a) Les transporteurs membranaires.....	51
b) Les facteurs de transcription.....	52
4. L'immunité et les TALE.....	54
a) La résistance par perte de sensibilité : contournement de l'ETS.....	54
b) Induction des gènes exécuteurs (<i>E</i>).....	54
i. Le premier gène exécuteur identifié.....	55
ii. Les autres gènes exécuteurs connus.....	55
c) <i>Xa1/Xo1</i> et <i>Bs4C</i> : des exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant.....	57
5. Les différents cas de contournement de la résistance par <i>Xoo</i>	58
a) Contournement de la résistance <i>Xa4</i> : expansion de la race 2.....	58
b) Contournement de la résistance <i>Xa7</i> : expansion de la race 9b.....	59
c) Contournement de la résistance <i>Xa1/Xo1</i> : les TALE interférant/tronqués.....	60
6. Les applications des TALE en science.....	61
a) Les outils bioinformatiques développés.....	61
i. Prédiction des cibles de TALE.....	61
ii. Design des TALE.....	61
iii. La suite QueTAL.....	62
b) TALE et édition de génome.....	63
VI. <i>Xanthomonas oryzae</i>	64
1. L'espèce <i>X. oryzae</i>	64
a) Origines et répartitions.....	64
b) Diversité de <i>X. oryzae</i>	66
2. <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> , agent de la bactériose vasculaire du riz.....	67
3. Les souches Africaines de <i>Xoo</i> vs les souches Asiatiques de <i>Xoo</i>	67
a) Les différences générales entre les souches de <i>Xoo</i> Africaines et Asiatiques.....	67
b) Déclenchement de la résistance : des cibles diverses.....	68
Projet de thèse.....	70

Chapitre 1 : Identification d'effecteurs TAL ayant une activité d'avirulence dans les souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	72
Chapitre 2 : Identification de QTL majeurs et mineurs conférant la résistance aux souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> chez le riz (<i>Oryza sativa</i> ssp. <i>indica</i>).....	104
Chapitre 3 : Utilisation d'une approche de RNA-seq pour identifier des gènes exécuteurs candidats contre les souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	123
Discussion générale.....	145
I. Le rôle central des effecteurs de type TAL dans le genre <i>Xanthomonas</i>	145
II. Quelle est la meilleure approche pour identifier des gènes de résistance à <i>Xanthomonas</i> ?.....	146
III. La course aux armements: quelles sont les stratégies évolutives mises en place par la plante et la bactérie pour survivre ?.....	149
a) Evolution des gènes de résistance chez les plantes : les NB-LRR.....	149
b) Evolution des gènes <i>tal</i> chez <i>Xanthomonas</i>	150
IV. Quels sont les mécanismes qui régissent l'évolution des TALomes ?.....	151
V. Que nous reste-t-il à découvrir encore sur les TALE ?.....	152
VI. Quelles sont les stratégies pour maintenir la résistance des cultures ?.....	153
Conclusions & Perspectives.....	155
Annexes.....	157
Références bibliographiques.....	160

Introduction générale

I. Généralités sur les interactions plantes - micro-organismes

1. Les différents types d'interactions

Tout comme les êtres humains, les plantes ne font pas exception à cette règle universelle qui est de partager leur environnement avec une myriade de micro-organismes. Souvent invisibles à l'œil nu, les interactions entre les plantes et les micro-organismes se produisent de différentes manières et à différents niveaux. Il en résulte plusieurs types d'interactions : neutres, mutuellement bénéfiques ou nuisibles, dont les micro-organismes respectifs sont communément appelés commensaux, symbiotes et pathogènes. Lors de ces interactions les plantes servent de niche écologique pour les micro-organismes qui peuvent coloniser les espaces apoplastiques, la surface de la plante ou encore les zones adjacentes à la surface de la plante, comme par exemple la rhizosphère (sol à proximité des racines). En plus d'une niche écologique et d'une source future de nutriments qui seront disponibles à la mort de la plante, de nombreuses plantes libèrent des composés qui attirent et nourrissent les micro-organismes associés. Ces derniers peuvent, dans certains cas, à leur tour sécréter des composés qui favorisent la croissance de la plante et/ou la rendre plus résistante aux stress biotiques et abiotiques (Schirawski and Perlin 2018).

Différents termes sont utilisés pour catégoriser les relations trophiques entre les plantes et les micro-organismes. Cette qualification implique la notion de transfert de ressources, comme les nutriments, d'un partenaire à l'autre. Lorsque les plantes restent vivantes pendant les échanges de nutriments, on parle d'interactions "biotrophes". Au contraire, lorsque le micro-organisme tue les cellules et les tissus végétaux pour se nourrir des restes, ce qui est caractéristique de plusieurs phytopathogènes, on parle d'interactions "nécrotrophes". Dans la pratique, sont reconnus de nombreux états intermédiaires caractérisés par des transitions temporelles et/ou spatiales entre la biotrophie et la nécrotrophie; ces relations sont qualifiées d' "hémibiotrophes" (Vleeshouwers and Oliver 2014). Lorsque les micro-organismes sont simplement capables de se nourrir de restes de plantes mortes sans jouer aucun rôle dans la mort, on parle d'interactions "saprotrophes" (Lewis 1973).

2. Les systèmes de défense de la plante

a) Les défenses constitutives

Au fil de l'évolution, les plantes ont développé diverses stratégies pour faire face aux agents pathogènes. Tout d'abord les micro-organismes phytopathogènes sont confrontés aux défenses constitutives de la plante qui sont d'ordre structural et biochimique. Ces dernières ne nécessitent pas

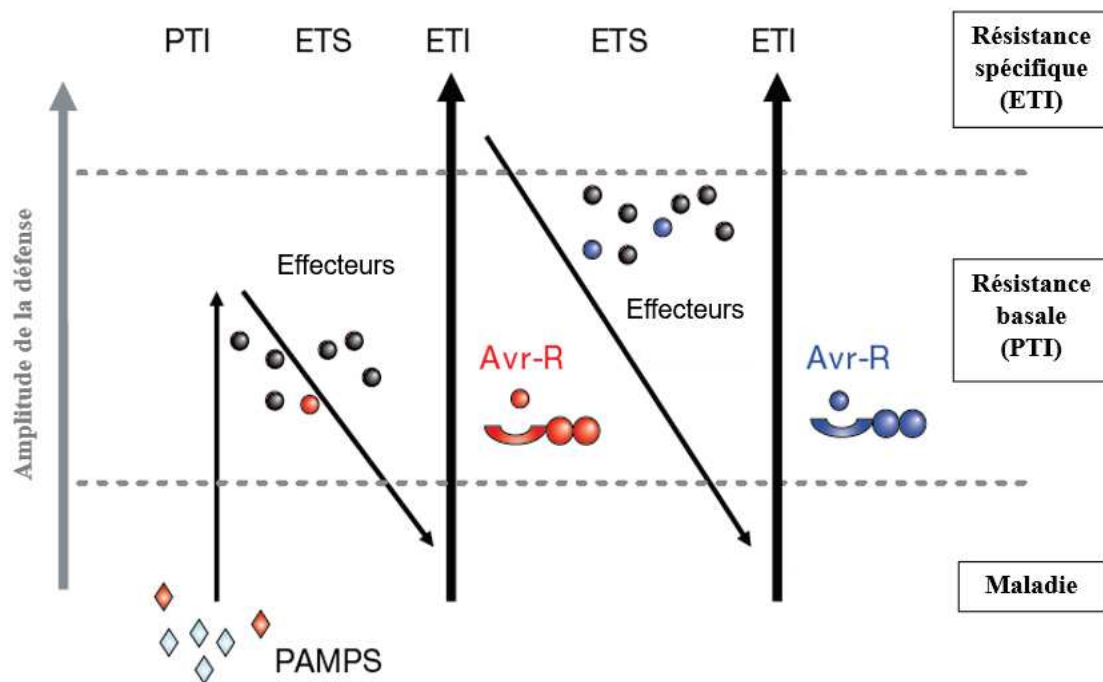


Figure 1. Modèle en Zig-Zag de coévolution des gènes de résistance de plantes et des effecteurs d'agents pathogènes.

En présence d'éliciteurs généraux de type PAMP, la plante met en place la PTI (Immunité médiée par les PAMPs), une réponse de défense non-spécifique et d'une faible amplitude. Si le pathogène injecte des effecteurs pour contourner cette voie de défense, la plante devient sensible, c'est l'ETS (Sensibilité induite par les effecteurs). Lorsque la plante possède un gène de résistance (*R*) codant pour une protéine capable de reconnaître spécifiquement un de ces effecteurs, une résistance d'une amplitude importante est mise en place par la plante : c'est l'ETI. L'effecteur reconnu est alors appelé protéine d'avirulence (*Avr*). Au fil du temps le pathogène évolue, et acquiert de nouveaux effecteurs, ce qui lui permet de déjouer les défenses spécifiques de la plante ; ce jusqu'à ce que de nouvelles protéines de résistance (*R*) apparaissent. Schéma adapté de Jones et Dangl (2006).

la détection du pathogène pour être mises en place. L'épiderme des plantes, qui est la première surface rencontrée par les micro-organismes, est généralement constituée d'une assise de cellules vivantes dont la paroi externe est principalement composée de cutine et de cires qui forment la cuticule, permettant de rendre l'épiderme plus ou moins imperméable. La paroi cellulaire végétale qui se compose de microfibrilles de cellulose, de pectine, d'hémicelluloses, de protéines et, dans certains cas, de lignine, est un autre composant de l'épiderme, qui avec la cuticule forment une première ligne de défense contre les attaques des pathogènes en limitant leur entrée dans les tissus végétaux. D'autre part, les plantes produisent aussi des métabolites secondaires aux propriétés antimicrobiennes parmi lesquelles on trouve les phytoanticipines. Ces composés sont produits dans le cadre de la croissance et du développement des plantes de façon constitutive et sont généralement stockés dans des organes ou des tissus spécialisés (e.g. les trichomes, les glandes oléifères ou les couches cellulaires épidermiques) (Lee et al. 2017).

b) Les défenses induites : un système immunitaire inné à deux niveaux

A la différence des défenses constitutives, la perception de l'agent pathogène par la plante est nécessaire à la mise en place des défenses induites. Deux situations sont possibles lors de la détection du pathogène. Premièrement, si l'agent pathogène est capable de se multiplier et d'entraîner le développement de la maladie, il est qualifié de virulent et la plante de sensible; ici on parle d'interaction compatible. Dans le cas contraire, lorsque la plante arrive à prévenir la colonisation par l'agent pathogène l'interaction est dite incompatible, et la plante est alors résistante. Deux types de réactions de défenses induites sont décrites à ce jour : i) les réponses de défense non-spécifiques (PTI pour "PAMP-Triggered Immunity", ou Immunité médiée par les PAMP), aussi appelée "réponses générales de défense", et ii) les réponses de défense spécifiques (ETI pour "Effector-Triggered Immunity", ou Immunité médiée par les Effecteurs). Le modèle dit "en Zig-Zag" illustre bien la dynamique évolutive sous-jacente à ces deux niveaux de résistance de la plante et aux éliciteurs microbiens (Figure 1, (Jones and Dangl 2006)).

i. Les défenses non-spécifiques : Pattern-Triggered Immunity "PTI"

Dans le cas de la résistance non-spécifique (PTI), la plante reconnaît des motifs moléculaires conservés, dérivés de l'agent pathogène appelés PAMP ("Pathogen-Associated Molecular Patterns"), tel que la flagelline (issue du flagelle bactérien), la chitine (présentes chez des champignons, insectes...) ou encore les lipopolysaccharides (LPS, composants de la membrane externe des bactéries à gram négatif) (Jones and Dangl 2006; Dodds and Rathjen 2010). Comme les PAMP sont souvent dérivés de microbes non-pathogènes, ils sont préférentiellement appelés motifs moléculaires associés aux microbes (MAMP ou "Microbe-Associated Molecular Patterns").

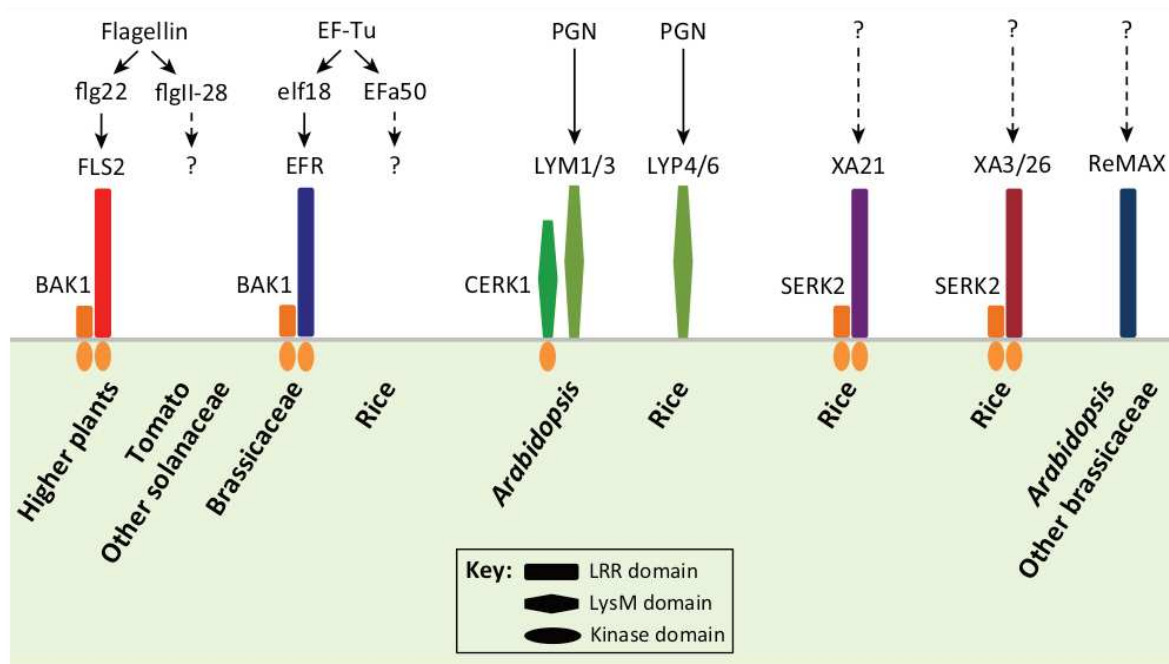


Figure 2. Reconnaissance des bactéries par les PRRs (Plant Pattern-Recognition Receptors).

Le récepteur kinase à domaine riche en leucine (RK-LRR, “Leucine-Rich Repeat Receptor Kinase”) FLS2 reconnaît la flagelline via l'épitope flg22. L'épitope flgII-28 est reconnu par la tomate et d'autres Solanacées via un PRR encore inconnu. Le RK-LRR EFR perçoit le facteur d'élongation Tu (EF-Tu) chez les Brassicacées au niveau de l'épitope elf18, un autre épitope reconnu chez le riz par un PRR non identifié. FLS2 et EFR interagissent avec le corécepteur RK (“Receptor Kinase”) BAK1 immédiatement après la reconnaissance de flg22 et elf18 respectivement. Les peptidoglycans (PGNs) sont reconnus chez *Arabidopsis* par les RLPs-LysM (“lysine motif receptor-like proteins”) LYM1 et LYM3, qui peuvent former un complexe avec la protéine RK-LysM CERK1. Chez le riz les récepteurs LysM impliqués sont LYP4 et LYP6. Toujours chez le riz, les RK-LRRs XA21 et XA3/26 interagissent avec la protéine RK-LRR OsSERK2 et confèrent la résistance à *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Le PAMP (“Pathogen-Associated Molecular Patterns”) reconnu par XA21 a été identifié récemment, il s'agit de la protéine RaxX (Pruitt et al., 2015). Le PAMP de *Xanthomonas* reconnu par le récepteur ReMAX chez *Arabidopsis* n'est pas identifié. Les flèches noires indiquent une liaison directe alors que les flèches en pointillé indiquent que la liaison directe n'a pas encore été démontrée ou que le PRR ou le PAMP n'a pas encore été identifié (Zipfel, 2014).

		Génotype de la plante	
		<i>R</i>	<i>r</i>
Génotype du pathogène	<i>Avr</i>	Interaction incompatible	Interaction compatible
	<i>avr</i>	Interaction compatible	Interaction compatible

Tableau 1. Modèle de l'interaction "gène-pour-gène", selon Flor (1955).

Lorsque le gène de résistance (*R*) de la plante est en présence du gène d'avirulence (*Avr*) correspondant chez le pathogène l'interaction est incompatible : la plante est résistante. Dans le cas des autres combinaisons l'interaction est compatible et la maladie se développe.

La plante reconnaît ainsi les MAMP à l'aide de récepteurs membranaires appelés PRR ("Pattern Recognition Receptors"). Ces récepteurs sont i) soit de type RK ("Receptor Kinase" ou Récepteur Kinase), comprenant en plus d'un domaine transmembranaire, un domaine kinase intracellulaire et un domaine récepteur extracellulaire de type LysM ("Lysine Motif") ou LRR ("Leucine Rich Repeat" ou domaine riche en leucine), ii) soit de type RLP ("Receptor Like Proteins") se composant des mêmes domaines que les RK à l'exception du domaine kinase cytoplasmique qui est absent (Figure 2, (Zipfel 2014).

Ces récepteurs sont également capables de détecter des motifs moléculaires associés à des dommages causés par les micro-organismes, les DAMP ("Damage-Associated Molecular Patterns"). Ces éliciteurs endogènes sont produits suite à l'action des enzymes du pathogène au cours du processus d'infection menant à la dégradation de la paroi cellulaire végétale ou de la cuticule (Hamann 2012; Yeats and Rose 2013; Serrano et al. 2014). La reconnaissance des DAMP déclenche également des réponses immunitaires non-spécifiques (PTI) (Bigeard et al. 2015).

- Perception des bactéries

La première paire PAMP/PRR identifiée chez une plante fut le récepteur RK-LRR FLS2 (Flagellin-Sensitive 2) d'*Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) qui reconnaît un peptide à la surface du flagelle bactérien de *Pseudomonas aeruginosa* nommé flg22 (Gómez-Gómez and Boller 2000; Bauer et al. 2001). Ce dernier est un épitope de 22 acides aminés (aa) conservés en N-terminal de la flagelline. La liaison de flg22 à FLS2 provoque l'hétérodimérisation de ce dernier avec BAK1 ("BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1-associated kinase 1") et leur activation réciproque est suivie par l'induction du système immunitaire (Figure 2, (Sun et al. 2013). La flagelline est reconnue par de nombreuses plantes et des orthologues fonctionnels de FLS2 ont été identifiés chez le tabac, le riz, la tomate et la vigne (Hann and Rathjen 2007; Robatzek et al. 2007; Takai et al. 2008; Trdá et al. 2014). La perception du facteur d'élongation bactérien EF-Tu par le récepteur RK-LRR EFR d'*A. thaliana* est une autre paire PAMP/PRR bien étudiée (Figure 2). Le récepteur EFR reconnaît directement l'épitope N-acétylé conservé elf18, provenant d'*Escherichia coli*, qui correspond aux 18 premiers acides aminés de EF-Tu (Kunze et al. 2004; Zipfel et al. 2006).

D'autres molécules appelées peptidoglycanes (PGN), qui constituent un des composés majeurs des parois cellulaires bactériennes, sont perçues par les plantes comme des PAMP. Différentes études suggèrent que la perception des PGN chez les plantes utilise un système de récepteurs multimériques comprenant des RLP-LysM se liant aux PGN et des RK-LysM transmettant le signal (Zipfel and Oldroyd 2017). Chez *Arabidopsis*, cette perception implique deux récepteurs RLP-LysM, AtLYM1 et AtLYM3, qui se lient spécifiquement aux PGN et également le récepteur RK-LysM CERK1, qui ne se lie pas aux PGN eux-mêmes (Willmann et al. 2011). Chez le riz la

perception des PGN implique les orthologues RLP-LysM OsLYP4 et OsLYP6 (Liu et al. 2012a) (Figure 2).

Par ailleurs, plusieurs potentiels PRR végétaux reconnaissant les bactéries ont été identifiés, mais leurs agonistes spécifiques restent inconnus. Il s'agit notamment du récepteur RK-LRR du riz XA3/XA26 qui assure la résistance à la bactérie *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Sun et al. 2004), et du récepteur RLP-LRR ReMAX/RLP1 d'*Arabidopsis*, qui confère la reconnaissance de l'énigmatique MAMP bactérien eMax partiellement purifié de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Jehle et al. 2013) (Figure 2). Depuis ces dernières années plusieurs gènes agissant en aval de la signalisation de défense médiée par Xa3/Xa26 ont été rapportés. Par exemple, *OsDR8* ("Oryza sativa defense-responsive gene8"), codant pour une enzyme responsable de la synthèse de la thiamine, joue un rôle positif dans la voie de défense initiée par Xa3/Xa26 (Wang et al. 2006). Les facteurs de transcription WRKY13 et WRKY45-2 sont aussi positivement impliqués dans la résistance médiée par Xa3/Xa26 en réprimant ou en activant l'expression d'autres gènes (Qiu et al. 2007; Tao et al. 2009; Xiao et al. 2013; Cheng et al. 2015). C3H12, codant pour une protéine se liant aux acides nucléiques, ainsi que *OsSERK2* ("Oryza sativa somatic embryogenesis receptor kinase2"), codant pour une kinase de type XA3/XA26, sont également nécessaires à la résistance médiée par Xa3/Xa26 (Deng et al. 2012b; Chen et al. 2014). Le gène *OsDR10*, quant à lui, influence négativement la résistance médiée par Xa3/Xa26 (Xiao et al. 2009).

- Perception des champignons et des virus

La chitine, constituant majeur de la paroi cellulaire des champignons, est reconnue par le récepteur RK-LysM CEBiP, initialement identifié chez le riz. Cette interaction induit l'homodimérisation du récepteur RK-LysM, et la formation d'un hétéro-complexe avec OsCERK1 (l'orthologue chez le riz de AtCERK1) (Shimizu et al. 2010; Hayafune et al. 2014). Chez le riz, les récepteurs RLP-LysM OsLYP4 et OsLYP6 sont autant impliqués dans la perception des PGN que de la chitine (Liu et al. 2012a).

Bien que les concepts d'immunité antivirale aient été initialement exclus du modèle en zigzag, des études récentes ont soulevé un thème commun dans les interactions plantes-virus. Les plantes peuvent également utiliser la PTI classique pour lutter contre les infections virales, de la même manière que pour les agents pathogènes non viraux (Kørner et al. 2013; Iriti and Varoni 2014; Niehl et al. 2016; Nicaise and Candresse 2017). L'immunité antivirale des plantes a été conceptuellement considérée comme du "silencing RNA", dans laquelle les ARN doubles brins viraux sont considérés comme des PAMP qui activent les protéines Dicers en tant que PRR; l'action des protéines Dicers

pouvant être supprimée par les effecteurs viraux (Moon and Park 2016; Calil and Fontes 2017). Plus récemment, de multiples études ont mis en évidence que l'arsenal de défense des plantes contre les virus impliquait des PRR transmembranaires comme dans la PTI classique (Yang et al. 2010; Liu et al. 2011a; Kørner et al. 2013; Zvereva et al. 2016; Nicaise and Candresse 2017; Kong et al. 2018).

- Perception des DAMP

En 2006, le peptide AtPep1 fut identifié comme un des DAMP déclenchant une réaction immunitaire chez *A. thaliana*. AtPep1 est un peptide de 23 aa qui dérive d'une molécule précurseur de 92 aa, nommée PROPEP1, appartenant à une famille multigénique qui code pour les propeptides PROPEP. L'expression de PROPEP1 est induite suite à une blessure, en réaction au méthyle jasmonate et à l'éthylène (Huffaker et al. 2006). AtPep1 est reconnu par deux récepteurs RK-LRR nommés PEPR1 et PEPR2 (Yamaguchi et al. 2006, 2010; Krol et al. 2010), ce qui entraîne l'activation de la transcription du gène de défense PDF1.2 appelé "defensin" et la synthèse d'H₂O₂, qui sont tous deux des composants de la réponse immunitaire innée (Huffaker et al. 2006).

Outre AtPep1, d'autres DAMP appartenant aux catégories des glucides, des lipides et des nucléotides peuvent être perçus par la plante comme molécule signal permettant d'induire le système immunitaire (Boutrot and Zipfel 2017).

- Dépôt de callose

La callose est un polymère de β -(1,3)-glucane amorphe et de poids moléculaire élevé. Outre son rôle dans la croissance et le développement normaux de la plante, il joue un rôle important dans la défense des plantes. Suite à la reconnaissance de PAMP, ou DAMP (Brown, Ian et al. 1998; Gómez-Gómez et al. 1999), une accumulation de callose est induite au site d'infection, au niveau des parois cellulaires. Appelées papilles, ces appositions de callose forment une barrière qui sert de matrice dans laquelle les composés antimicrobiens peuvent être déposés, ce qui permet de concentrer les défenses chimiques sur les sites cellulaires d'attaque. La chitine et le chitosan sont des exemples de PAMP puissants, provenant de parois cellulaires fongiques, induisant le dépôt de callose (Iriti and Faoro 2009).

ii. Les défenses spécifiques: Effector-Triggered Immunity "ETI"

- Définitions générales des acteurs de l'ETI

Le second niveau de résistance appelé ETI ("Effector-Triggered Immunity") décrit la reconnaissance par la plante de certaines protéines synthétisées par l'agent pathogène, appelées

effecteurs, qui sont délivrées dans la matrice extracellulaire ou dans la cellule végétale pour améliorer l'aptitude de l'agent pathogène en lui permettant d'outrepasser la PTI. Les plantes qui ne sont pas capables de détecter ces effecteurs sont sensibles à l'agent pathogène, ce qui donne lieu à une sensibilité déclenchée par les effecteurs (ETS, voir paragraphe 5). Au contraire, lorsque que les plantes peuvent reconnaître les effecteurs par le biais des protéines de résistance (protéines R) l'ETI se met en place (Bigéard et al. 2015). Ce mécanisme de reconnaissance repose sur le modèle d'interaction "**gène pour gène**" décrit par H.H. Flor (1955) de telle sorte que la résistance a lieu uniquement lorsque des plantes, contenant un gène de résistance *R* spécifique, sont infectées par une souche de l'agent pathogène portant le gène d'avirulence *Avr* correspondant (Tableau 1, (Flor 1971). En comparaison à la PTI, l'ETI est une réponse de défense amplifiée et accélérée qui se manifeste habituellement par une cascade de signalisation aboutissant à un "burst" oxydatif et qui se traduit par la mise en place de la réponse hypersensible ("Hypersensitive Response", ou HR) (Greenberg and Yao 2004; Jones and Dangl 2006). La HR permet le confinement du pathogène au site d'infection et ainsi d'éviter sa propagation (Dangl and Jones 2001; Jones and Dangl 2006).

- Les protéines R

Plusieurs classes de protéines R sont connus à ce jour chez les plantes, en outre, la catégorie des LRR extracellulaires (eLRR) qui comprend les protéines Cf de la tomate permettant la résistance au champignon pathogène *Cladosporium fulvum* qui provoque la maladie de la moisissure des feuilles de la tomate (*Solanum lycopersicum*) (Joosten and De Wit 1999; Rivas and Thomas 2005; Stergiopoulos and De Wit 2009). Les protéines de résistance Cf9, Cf4, Cf5 et Cf2 sont des protéines RLP qui perçoivent respectivement les effecteurs Avr9, Avr4, Avr5 et Avr2 (Thomas et al. 1998; Rivas and Thomas 2005). Il a longtemps été suggéré que les RLP, qui contrairement aux RLK ne possèdent pas de domaine de signalisation intracellulaire, nécessiteraient d'une interaction avec une protéine kinase pour initier la signalisation (Jones et al. 1994; Joosten and De Wit 1999; Liebrand et al. 2014). En 2015, Postma et ses collaborateurs ont démontré que le récepteur extracellulaire Cf4, en association avec la protéine RLK-LRR *SISOBIR1* ("SUPPRESSOR OF BIR1-1"), perçoit Avr4 au niveau de la membrane plasmique des cellules hôtes, induisant par la suite l'endocytose des deux récepteurs dépendamment de BAK1/SERK3 ("BRI1-ASSOCIATED KINASE 1" / "SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASE 3"). (Postma et al. 2016). De la même façon que Cf4, Cf9 nécessite la reconnaissance, directe ou indirecte, de Avr9 pour induire son internalisation via BAK1/SERK3. De plus, les deux RLP, Cf4 et Cf9, formeraient chacun un hétérodimère avec la protéine SERK1 lors de la perception de leur effecteur d'avirulence respectif (Postma et al. 2016).

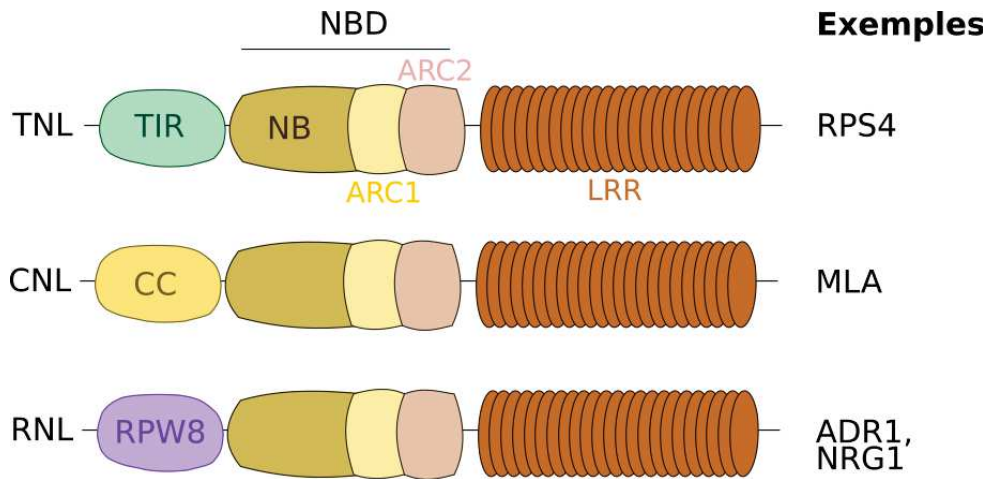
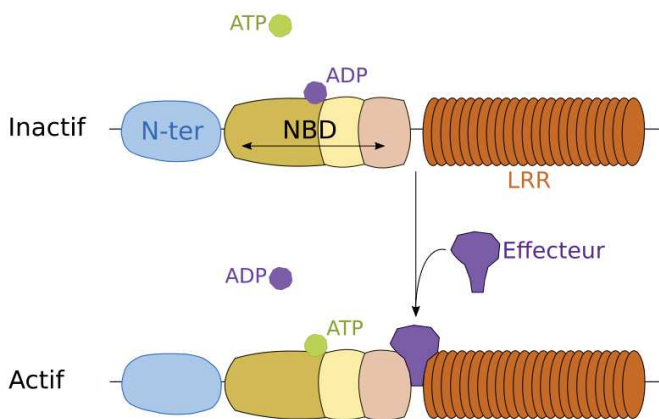


Figure 3 . Structures des récepteurs NB-LRRs chez les plantes.

Architectures des domaines de NB-LRRs de plantes classées en trois groupes contenant un domaine TIR, CC ou CC similaire à RPW8 fusionné aux domaines NBD et LRR. Le NBD peut être encore divisé en sous-domaines NB, ARC1 et ARC2. CC, coiled-coil; LRR, leucine-rich repeat; NBD, nucleotide-binding domain; RPW8, resistance to powdery mildew 8; TIR, Toll/interleukin-1 receptor/R protein. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

Echange ATP/ADP



Commutation d'équilibre

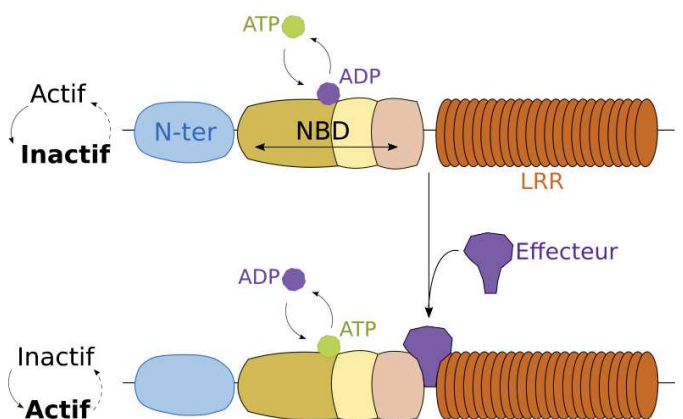


Figure 4. Deux modèles de liaison ATP/ADP des NB-LRRs chez les plantes.

Dans le modèle d'échange ATP/ADP, les NB-LRRs à l'état de repos sont liés à l'ADP. Lors de la détection d'un pathogène, l'ADP est libéré et l'ATP entre dans la poche de liaison pour induire et stabiliser les changements de conformation. Dans le modèle de commutation d'équilibre, les NB-LRR passent d'un état inactif lié à l'ADP à un état actif lié à l'ATP. La perception de l'effecteur pousse l'équilibre vers l'état lié à l'ATP, conduisant à l'activation des complexes NB-LRR. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

Par ailleurs, il existe une classe de gènes de résistance chez les plantes qui a évolué afin de piéger les effecteurs des agents pathogènes au niveau du promoteur des gènes de l'hôte; on les nomme gènes exécuteurs (**Cette catégorie de gènes sera détaillée plus bas, voir section V. 4. c**). Cependant, une grande partie des protéines clés de l'ETI appartiennent à une famille de récepteurs intracellulaires polymorphes nommés NB-LRR ("Nucleotide-Binding Leucine-Rich-Repeat") (Jones and Dangl 2006; Jacob et al. 2013).

- Les NB-LRR

S'élevant à plusieurs centaines dans chaque génome de plante, les gènes *NB-LRR* évoluent rapidement. Leur expansion et diversification sont sans doute dû aux forces évolutives imposées par la présence de pathogènes, évoluant eux-même très vite, afin d'obtenir de nouvelles capacités de reconnaissance (Adachi et al. 2019).

L'architecture des récepteurs NB-LRR se compose de trois domaines principaux (Figure 3) :

i) un **domaine N-terminal** qui permet de classer en trois différentes catégories les NB-LRR contenant soit des domaines "Toll-interleukine-1 receptor" (TIR), "Coiled-Coil" (CC), ou bien encore "resistance to powdery mildew 8" (RPW8) (pour revue dans (Duxbury et al. 2021). Les TIR-NB-LRR (ou TNL) sont présents uniquement chez les dicotylédones, tandis que les CC-NB-LRR (ou CNL) sont conservés à la fois chez les dicotylédones et les monocotylédones (Yue et al. 2012; Jacob et al. 2013).

ii) un **domaine central NBD** ("nucleotide binding domain") qui peut être divisé en trois sous-domaines conservés : les sous-domaines NB, ARC1 et ARC2 (Biezen and Jones 1998; Takken et al. 2006),

iii) un **domaine LRR** ("leucine-rich repeat") qui permet l'interaction protéine-protéine et à la fois la perception des ligands et la régulation de l'activité des NB-LRR (Takken and Goverse 2012).

Le domaine NBD des NB-LRR fait partie de la superfamille des ATPases et permet un changement de conformation de la protéine via l'échange d'une molécule d'ADP en ATP, ceci suite à la perception de l'effecteur. De nombreuses études démontrent que les NB-LRR liés à l'ADP sont dans un état inactif, et que les NB-LRR liés à l'ATP sont dans un état actif (Figure 4, (Tameling et al. 2006; Williams et al. 2011; Slootweg et al. 2013; Wang et al. 2019a, b). Dans un modèle général d'activation des NB-LRR végétaux, les domaines TIR ou CC N-terminaux et LRR C-terminaux coopèrent pour inhiber stériquement le domaine NBD de l'échange ATP/ADP (Takken and Goverse

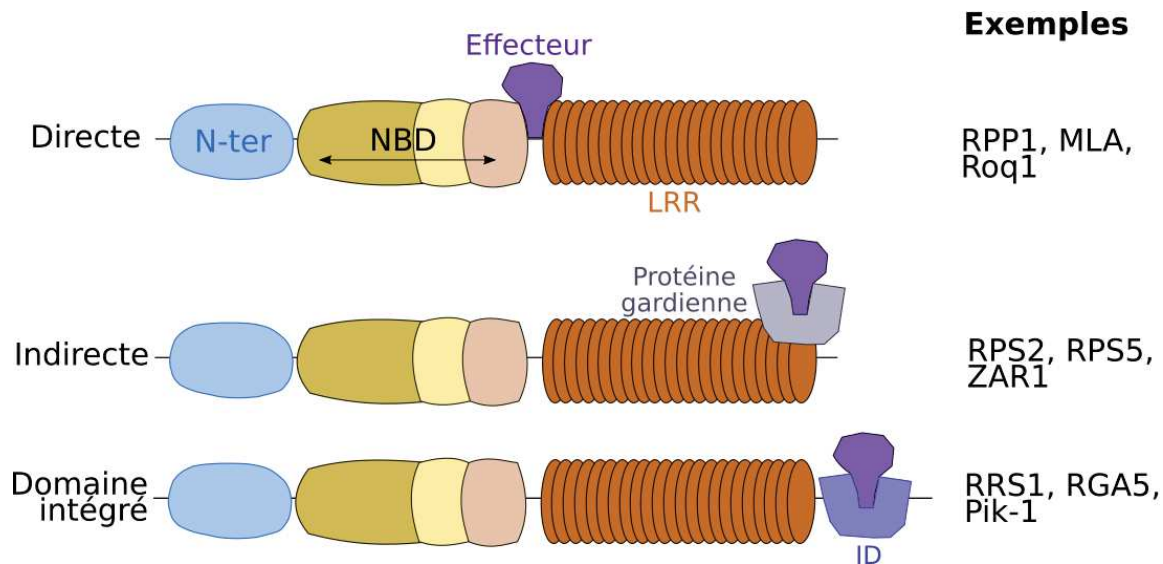


Figure 5. Trois modèles de reconnaissance des effecteurs par les NB-LRRs des plantes.

Certains NB-LRRs de plantes se lient directement aux protéines effectrices correspondantes ou détectent indirectement l'effecteur pathogène par l'intermédiaire des protéines gardées ou decoy. Certains NB-LRRs de plantes ont une identité non canonique pour médier la reconnaissance de l'effecteur. ID, integrated domain; LRR, leucine-rich repeat; N, N-terminal domain (CC, TIR ou RPW8); NBD, nucleotide-binding domain. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

2012; Griebel et al. 2014). Le domaine LRR fonctionne souvent comme une unité auto-inhibitrice qui régule l'activité des NB-LRR végétaux et animaux. Par exemple, les NB-LRR végétaux RPS5 ("Resistance to *Pseudomonas Syringae*5") et RPP1A ("Recognition to *Peronospora Parasitica*1A") deviennent tous deux constitutivement actifs lorsque leurs domaines LRR sont supprimés (Weaver et al. 2006; Qi et al. 2012). En outre, le domaine LRR peut également participer à la liaison directe des ligands au cours de la perception des pathogènes ; par exemple, le domaine LRR de RPP1 est nécessaire et suffisant pour immunoprécipiter son effecteur de reconnaissance ATR1 (Krasileva et al. 2010).

- Les différents modèles d'interactions protéine R/ protéine Avr

On distingue différents modèles décrivant au niveau moléculaire l'interaction protéine Avr - protéine R : i) le modèle ligand-récepteur où l'interaction entre la protéine R et la protéine Avr est directe, ii) les modèles où l'interaction est indirecte, tel que le modèle de garde, ou celui dit de leurre (ou "decoy"), et iii) le modèle de reconnaissance par le biais d'un domaine intégré (ID) où l'interaction avec l'effecteur s'effectue via la reconnaissance par un domaine fusionné au C-terminal du NB-LRR (Figure 5).

Reconnaissance directe:

Le mécanisme le plus simple et le plus intuitif par lequel les NB-LRR perçoivent les effecteurs est l'interaction directe. Par exemple, la série de NB-LRR alléliques Pik chez le riz confère une perception à de multiples effecteurs AVR-Pik dans *Magnaporthe oryzae* par liaison directe. Pikm peut reconnaître trois effecteurs AVR-Pik, tandis que Pikp ne peut en reconnaître qu'un seul. En étudiant les interactions entre Pik et les protéines AVR-Pik, les chercheurs ont pu utiliser l'ingénierie guidée par la structure pour créer un nouvel allèle de Pik qui se lie à un AVR-Pik non reconnu auparavant (De La Concepcion et al. 2019). D'autres exemples de NB-LRR de plantes détectant la présence d'effecteurs par interaction directe incluent le TNL RPP1 d'*Arabidopsis* se liant à l'effecteur ATR1 de *Hyaloperonospora arabidopsidis*, et le CNL Pi-ta du riz qui reconnaît par interaction directe l'effecteur fongique AVR-Pita de *M. oryzae* (Jia et al. 2000; Krasileva et al. 2010). Deux observations plus sophistiquées de reconnaissance directe ont été rapportées pour les complexes Roq1-XopQ et RPP1-ATR1, des TIR-NB-LRR et des effecteurs correspondant aux pathosystèmes *Nicotiana tabacum-Xanthomonas euvesicatoria* et *A. thaliana-Hyaloperonospora arabidopsidis* respectivement, dans lesquels plusieurs chaînes latérales exposées à la surface du domaine LRR et un connecteur allongé entre deux LRRs lient directement les effecteurs (Ma et al. 2020; Martin et al. 2020).

Reconnaissance indirecte:

i) Le modèle de garde : De nombreux NB-LRR de plantes n'interagissent pas directement avec les effecteurs auxquels ils confèrent une reconnaissance. L'hypothèse de garde décrit un modèle de reconnaissance des effecteurs via des interactions ligand-récepteur indirectes (Dangl and Jones 2001). Les NB-LRR de garde surveillent l'intégrité des cibles moléculaires des effecteurs et activent une réponse immunitaire lors de la reconnaissance récepteur-ligand. Chez *Arabidopsis*, la protéine RIN4 ("RPM1-interacting 4") est une protéine réceptrice qui interagit directement avec les NB-LRR de garde RPS2 ("Resistance to *P. syringae* 2") et RPM1 ("Resistance to *P. syringae* pv. *maculicola* 1"). De multiples effecteurs ciblent RIN4, notamment la protéase sécrétée AvrRpt2 de *P. syringae*, qui clive RIN4, conduisant à l'activation de la protéine R RPS2 qui déclenche le signal immunitaire (Axtell and Staskawicz 2003; Mackey et al. 2003). De plus, l'effecteur AvrRpm1 de *P. syringae* induit l'adénosine diphosphate (ADP)-ribosylation de RIN4, qui à son tour conduit à la phosphorylation de RIN4 par les kinases de l'hôte. Le changement de conformation de RIN4 conduit alors à l'activation de la protéine R RPM1, déclenchant ainsi une réaction immunitaire (Chung et al. 2011; Liu et al. 2011b; Redditt et al. 2019). Un autre exemple bien étudié d'un NB-LRR de garde est RPS5, qui surveille la protéine kinase PBS1 ("Arabidopsis AvrPphB Susceptible1"). Le clivage de PBS1 par la protéase effectrice AvrPphB active l'immunité médiée par RPS5 (Shao et al. 2003; Ade et al. 2007).

ii) Le modèle "decoy" : L'hypothèse du modèle de leurre ("decoy"), dérivée du modèle de garde, décrit un scénario selon lequel des protéines gardées par des NB-LRR sont ciblées par des effecteurs, mais ne jouent aucun rôle physiologique discernable dans l'immunité, si ce n'est celui de leurre dans la reconnaissance des effecteurs (Van Der Hoorn and Kamoun 2008). Un exemple de leurre classique est la pseudokinase ZED1 ("HopZ1 ETI deficient 1") qui est nécessaire à l'activation du CNL ZAR1 ("HopZ-activated resistance 1"). ZAR1 confère une reconnaissance indirecte à de multiples effecteurs, dont l'effecteur AvrAC de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* et l'effecteur HopZ1a de *P. syringae* (Lewis et al. 2013; Wang et al. 2015b; Seto et al. 2017; Schultink et al. 2019; Laflamme et al. 2020). AvrAC et HopZ1a respectivement, uridylyle et acétyle des récepteurs de type kinases cytoplasmiques ("Receptor-Like Cytoplasmic Kinase" ou RLCK) pour conférer la virulence (Feng et al. 2012; Lewis et al. 2013). AvrAC uridylyle la protéine RLCK PBL2, résultant en PBL2^{UMP}, qui interagit ensuite avec la protéine RLCK RKS1 ("pseudokinase resistance-related kinase 1") qui fait partie d'un complexe préformé avec ZAR1 (Wang et al. 2015b). L'hétérotrimère ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} s'assemble ensuite en une structure pentamérique en forme de roue appelée résistosome, composée de cinq protomères ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} (Wang et al. 2019a, b). HopZ1a, quant à lui, acétyle la pseudokinase ZED1, faisant partie

d'un autre complexe préformé avec ZAR1, pour déclencher l'assemblage d'un complexe d'ordre supérieur dans la plante, présumé être équivalent au résistosome ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} (Lewis et al. 2013; Hu et al. 2020). D'autres RLCK sont ciblées par HopZ1a et reconnues par le complexe ZAR1-ZED1, où ZED1 exerce une fonction d'adaptateur qui rappelle celle de RKS1 (Bastedo et al. 2019). L'uridylation de PBL2 n'augmente pas la virulence médiée par AvrAC, et ZED1 n'a pas d'activité kinase ; par conséquent, ces protéines hôtes sont considérées comme des leurres et non comme des récepteurs (Lewis et al. 2013; Wang et al. 2015b).

Reconnaissance par le biais d'un domaine intégré :

Certains NB-LRR contiennent des domaines non canonique, appelés domaines intégrés (ID), qui permettent la reconnaissance des effecteurs pathogènes correspondants. La perception des effecteurs se fait pour certains ID par interaction directe, pouvant entraîner dans certains cas une modification enzymatique du domaine intégré. Dans ces cas, la relation entre un ID et un NB-LRR rappelle celle d'un récepteur gardé par un NB-LRR correspondant. En effet, le lien génétique résultant de la fusion d'un ID avec un NB-LRR confère des avantages, c'est-à-dire que le brassage d'allèles qui entraînerait une perte de compatibilité entre une protéine gardée et son NB-LRR est beaucoup moins susceptible de se produire dans la configuration NB-LRR/ID. L'un des exemples de NB-LRR/ID les mieux étudiés est celui de la protéine RRS1 ("Resistance to *Ralstonia solanacearum* 1"), qui contient un domaine WRKY en C-terminal comme ID (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). Les domaines WRKY lient l'ADN, et de nombreux facteurs de transcription contenant des domaines WRKY ont été identifiés pour réguler les réponses immunitaires (Pandey and Somssich 2009). L'effecteur PopP2 de *R. solanacearum* est une acétyltransférase qui se lie et acétyle les facteurs de transcription WRKY, perturbant la liaison à l'ADN et favorisant la virulence (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). Cependant, au cours de l'infection de plantes exprimant RRS1, le domaine WRKY de RRS1 est acétylé par PopP2, et pour les allèles de résistance de RRS1 (RRS1-R), l'acétylation du domaine WRKY est suffisante pour activer une réponse immunitaire, en coopération avec sa paire NB-LRR RPS4 ("Resistance to *P. syringae* 4") (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). RRS1 confère la reconnaissance à d'autres effecteurs, y compris l'effecteur AvrRps4 de *P. syringae*, qui se lie également au domaine WRKY de RRS1 (Sarris et al. 2015). D'autres NB-LRR/ID végétaux bien étudiés comprennent les NB-LRR RGA5 et Pik-1 du riz, qui contiennent des domaines intégrés associés aux métaux lourds (HMA) (Césari et al. 2014).

De récentes études ont montré que certains NB-LRR ont évolué pour fonctionner ensemble, formant à divers degrés des complexes génétiques ou biochimiques. Les NB-LRR peuvent donc fonctionner sous forme de paires, de réseaux fonctionnels, en plus de fonctionner sous la forme d'un singleton. Deux des exemples les plus étudiés de paires NB-LRR sont RPS4/RRS1 d'*Arabidopsis* et

RGA4/RGA5 (également connu sous le nom de Pia-1 et Pia-2) du riz. Dans le cas de RPS4/RRS1, RPS4 est surexprimé et constitutivement auto-actif; cette activation peut être supprimée quand RPS4 est co-exprimé avec RRS1. La perception des effecteurs AvrRps4 et PopP2 par le domaine WRKY de RRS1 initie une réponse immunitaire qui nécessite une interaction directe entre RRS1 et RPS4 (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015; Ma et al. 2018). Par conséquent, RRS1 fonctionne comme un NB-LRR capteur qui supprime l'auto-activité de l'exécuteur RPS4 en l'absence d'effecteurs, et active RPS4 en présence des protéines effectrices. La paire de NB-LRR RGA4/RGA5 détecte également deux protéines effectrices sans séquence apparentée, AVR-Pia et AVR1-CO39 de *M. oryzae*. Les deux effecteurs se lient au domaine HMA intégré dans RGA5 et ce qui active ensuite les réponses immunitaires par l'intermédiaire de RGA4 (Césari et al. 2013, 2014). Une intégration de domaine similaire a été trouvée dans une autre paire de NB-LRR du riz, Pik-1/Pik-2, dans laquelle le domaine HMA est intégré dans Pik-1 et est capable de lier la protéine effectrice AVR-Pik. La détection des allèles AVR-Pik par Pik-1 active les réponses immunitaires par l'intermédiaire de l'exécuteur apparié Pik-2 (Ashikawa et al. 2008; Maqbool et al. 2015). Il est intéressant de noter qu'une étude récente a révélé que 20 % des NB-LRR du génome du riz Tetep sont appariés (Wang et al. 2019c), ce qui suggère que le système NB-LRR apparié pourrait contribuer de manière significative à la résistance aux maladies de certains cultivars de riz.

3. Transduction du signal éliciteur

Il est important de noter que la PTI et de l'ETI diffère par le mode de reconnaissance du premier signal (MAMP ou ET3), par la puissance de la réponse, sa localisation, sa vitesse et la durée de sa mise en place. Toutefois une grande partie des voies de signalisation conduisant à leur mise en place respective sont partagées. Elles conduisent toutes deux à l'activation de diverses voies de transduction de signaux impliquant les MAPK ("mitogen-activated protein kinases"), les espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'acide salicylique (SA), l'acide jasmonique (JA), l'éthylène (ET), et d'autres phytohormones et molécules de signalisation. Ces phénomènes aboutissent à la production de composés antimicrobiens et de métabolites secondaires, à la modification de la structure cellulaire par le dépôt de callose et à la mort cellulaire programmée en réponse au stress (Pedley and Martin 2005; Meng and Zhang 2013).

a) L'influx de Ca^{2+}

L'une des premières réponses physiologiques connues à la perception des MAMP/DAMP, relative à la PTI, est un afflux de Ca^{2+} extracellulaire dans le cytosol, qui se produit entre 30 sec et 2 min et atteint un pic vers 4-6 min (Jeworutzki et al. 2010; Ranf et al. 2011; Nomura et al. 2012). En plus de l'influx transitoire et rapide de Ca^{2+} dans le cytosol lors de la perception de MAMP, Nomura et ses

collaborateurs (2012) ont observé une deuxième augmentation de longue durée (de $t_0 + 8$ min à plus de $t_0 + 30$ min dans le cas du flg22) du niveau de Ca^{2+} libre dans le stroma du chloroplaste. La signalisation relative à la mise en place de l'ETI, a contrario, induit un influx de Ca^{2+} plus lent mais plus durable (Grant et al. 2000). Le Ca^{2+} est considéré comme un messager secondaire interagissant, en outre, avec diverses protéines médiatrices de la réponse immunitaire (Bigéard et al. 2015).

b) La production de ROS

Les ROS, qui jouent un rôle clé dans la défense et la signalisation, sont induits à la fois dans la PTI et l'ETI. Alors que la PTI induit une émission de ROS rapide et transitoire, appelée "burst oxydatif", l'ETI est associée à une émission de ROS biphasique, le second pic étant généralement beaucoup plus fort et plus durable que le premier (Chai and Doke 1987; Levine et al. 1994). Ainsi, 2-3 min après la perception des MAMP, une production extracellulaire de ROS survient et atteint son maximum vers 10-14 min (Chinchilla et al. 2007; Nühse et al. 2007; Ranf et al. 2011). Chez *Arabidopsis*, la NADPH oxydase localisée dans la membrane plasmique, appelée "respiratory burst oxidase homolog D" (RBOHD), est responsable de cette explosion de ROS induite par les MAMP (Zhang et al. 2007; Nühse et al. 2007; Ranf et al. 2011). De multiples protéines kinases associées à la PTI, y compris BIK1/PBL, CPK, SIK1 et CRK2, phosphorylent directement RBOHD pour déclencher la production extracellulaire de ROS dans *Arabidopsis* (Li et al. 2014; Kadota et al. 2014; Kimura et al. 2020; Lee et al. 2020). RBOHD joue également un rôle de médiateur dans la production de ROS au cours de l'ETI initiée par RPS2 et RPM1, et la phosphorylation de RBOHD aux résidus Ser³⁴³ et Ser³⁴⁷ est importante pour la production de ROS à la fois dans la PTI et l'ETI (Torres et al. 2002; Kadota et al. 2019; Yuan et al. 2021). Deux études récentes ont montré que le deuxième "burst oxydatif", pendant l'ETI, nécessite de manière surprenante la perception des MAMP par la plante (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021). Cela suggère que la deuxième phase de ROS associée à l'ETI dépend de la signalisation découlant des PRR. En outre, cette signalisation PRR-dépendante est nécessaire pour la phosphorylation maximale de RBOHD pendant l'ETI, tandis que la signalisation NB-LRR-dépendante (relative à l'ETI) régule à la hausse les niveaux de RBOHD (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021), ce qui souligne la double exigence de la signalisation PRR- et NB-LRR- dépendante pour assurer une production robuste de ROS pendant l'ETI.

c) Les MAP kinases

Outre la phosphorylation des complexes de récepteurs immunitaires mentionnée précédemment, qui se produit en quelques secondes, d'autres protéines kinases sont rapidement activées lors de la perception des MAMP. La majorité d'entre elles appartiennent aux familles de protéines kinases CDPK ("Ca²⁺-induced calcium-dependent protein kinases"), MAPK et AGC (Protein kinase A, G et

C) et sont considérées comme des éléments clés permettant la régulation d'un large spectre de cibles protéiques, telles que les facteurs de transcription, les enzymes métaboliques, les protéines de la membrane plasmique et les protéines du cytosquelette (Nühse et al. 2007; Rayapuram et al. 2014). Le génome d'*Arabidopsis* code pour 20 MAPK, 10 MAPKK (MAPK Kinases), et 60 MAPKKK (MAPKK Kinases) (Ichimura et al. 2002). Les MAPKKK, MAPKK, et MAPK constituent des modules de signalisation qui traduisent les stimuli extracellulaires en signaux intracellulaires, par la phosphorylation de protéines intermédiaires. Ces protéines ont été largement étudiées dans le contexte des interactions plantes-pathogènes (Meng and Zhang 2013). Chez *A. thaliana* lors d'un traitement par le peptide flg22 et d'autres MAMP, quatre MAPK (MPK3, MPK4, MPK6 et MPK11) sont activées dans les 1 à 2 min pour atteindre un pic d'activité à 10-15 min, qui diminue ensuite rapidement (Nühse et al. 2000; Zipfel et al. 2006; Bethke et al. 2012). L'activation de la signalisation NB-LRR-dépendante déclenche une activation des MAPK plus lente mais plus durable, comme pour l'influx de Ca^{2+} (Tsuda et al. 2013; Su et al. 2018). Alors que les kinases de la famille RLCK phosphorylent directement les MAPKK après la perception des MAMP au cours de la PTI (Yamada et al. 2016; Yan et al. 2018; Bi et al. 2018), la façon dont la cascade de MAPK est activée au cours de l'ETI reste à élucider. De manière intéressante, RRS1/RPS4 et RPP4 qui sont des TNL, ne peuvent pas déclencher l'activation de MAPK chez des lignées d'*Arabidopsis* transgéniques exprimant AvrRps4 ou AvrRpp4 en l'absence de signalisation PRR-dépendante (Ngou et al. 2020, 2021), ce qui suggère que la phosphorylation des MAPK associée aux TNL est dépendante de la voie de signalisation de la PTI. Cependant, l'activation de la cascade de MAPK par les CNL tels que RPS2, RPS5 et RPM1, semble être indépendante de la signalisation médiée par les PRR (Yuan et al. 2021), ce qui indique que les PRR et les CNL pourraient activer la cascade de MAPK par des mécanismes différents (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021).

d) Les hormones végétales

Enfin, l'implication des phytohormones dans la régulation des réponses de défense aux stress biotiques des plantes ne peut être exclue. L'ETI et la PTI induisent des voies de signalisation spécifiques dans lesquelles trois phytohormones sont cruciales, à savoir l'acide salicylique (SA), le jasmonate (JA) et l'éthylène (ET). Les voies de régulation du SA sont le plus souvent induites par les agents pathogènes biotrophes et héli-biotrophes. De même, les voies de régulation du JA et de l'ET sont en général induites par les agents nécrotrophes et les ravageurs masticateurs (Bari and Jones 2009; De Vleeschauwer et al. 2014). D'autres phytohormones, comme l'acide abscissique (ABA), l'auxine (AIA), les gibbérellines (GA), les cytokinines (CK) et les brassinostéroïdes (BR), modulent l'immunité principalement par des interactions avec le SA et le JA. Les voies de signalisation médiées par ces phytohormones interagissent de manière antagoniste ou synergique.

Les interactions hormonales forment collectivement des réseaux de signalisation, qui interviennent dans l'immunité ainsi que dans la croissance et les réponses au stress abiotique de la plante (Pieterse et al. 2009). L'infection par un agent pathogène biotrophe provoque une accumulation accrue de SA chez les eudicotylédones comme *A. thaliana*, le fraisier, le poivron et la pomme de terre (Halim et al. 2007; Yang et al. 2011; Fu et al. 2011; Grellet-Bournonville et al. 2012; Kim and Hwang 2014), mais cela ne semble pas être le cas chez les monocotylédones. Cependant, des expériences montrent que l'application exogène de SA, ou de son analogue synthétique le benzothiadiazole (BTH), déclenche des réponses immunitaires et une résistance contre les pathogènes biotrophes et hémibiotrophes aussi bien chez les eudicotylédones que chez les monocotylédones (Yang et al. 2011; Grellet-Bournonville et al. 2012; Sugano et al. 2013; Ueno et al. 2015). L'application de JA déclenche l'immunité contre les pathogènes nécrotrophes chez *A. thaliana*, le riz et *Medicago truncatula* (Spoel et al. 2007; Taheri and Tarighi 2010; Gaige et al. 2010). En plus des pathogènes nécrotrophes, le JA est associé à la défense contre les herbivores chez de nombreux angiospermes, tels que *A. thaliana*, le maïs, le peuplier, *Picea sitchensis*, *Nicotiana attenuata* et *M. truncatula* (Howe and Jander 2008). L'ET, quant à lui, contribue positivement ou négativement à l'immunité selon l'agent pathogène, les conditions environnementales et l'espèce végétale. Par exemple, chez le soja, l'insensibilité à l'ET augmente la sévérité de la maladie causée par le champignon nécrotrophe *Rhizoctonia solani* (Hoffman et al. 1999), alors que l'expression accrue de l'enzyme ACS2, impliquée dans la voie de biosynthèse de l'ET, favorise la résistance contre *R. solani* chez le riz (Helliwell et al. 2013). Ainsi, comme cela a été signalé chez *A. thaliana*, les rôles positifs de l'ET dans la résistance aux nécrotrophes semblent répandus chez les angiospermes (Glazebrook 2005). L'ET contribue également à la résistance contre les pathogènes biotrophes et hémibiotrophes chez l'arabette, le soja, le tabac et le riz (Hoffman et al. 1999; Shibata et al. 2010; Helliwell et al. 2013; Tintor et al. 2013). Chez *A. thaliana*, la perception du peptide bactérien flg22 déclenche la production d'ET par l'augmentation de l'expression du gène ACS et la stabilisation de la protéine (Liu and Zhang 2004; Denoux et al. 2008). Cependant, il existe de nombreux exemples dans lesquels l'ET favorise la sensibilité aux maladies contre les biotrophes et les hémibiotrophes (Lund et al. 1998; Chen et al. 2009b, a; Shen et al. 2011; Liu et al. 2016). Cette dichotomie peut être expliquée par les interactions complexes entre la voie de signalisation de l'ET avec celles du SA et JA (Pieterse et al. 2009).

En plus des mécanismes de défense induits au site de l'infection, les plantes peuvent également activer des réponses immunitaires systémiques qui confèrent un état de résistance généralisé au niveau de la plante entière. Les mécanismes de signalisation de la défense systémique comprennent la résistance systémique induite ("Systemic Induced Resistance" ou SIR), qui est déclenchée en réponse à la colonisation des racines par des microbes bénéfiques (Van Wees et al. 2008), et la

résistance systémique acquise ("Systemic Acquired Resistance" ou SAR), qui est activée en réponse à une infection par un pathogène (Spoel and Dong 2012; Kachroo and Robin 2013; Gao et al. 2014). L'induction de la résistance systémique acquise implique la génération d'un ou de plusieurs signaux mobiles au site de l'infection primaire, qui se déplacent vers les tissus distaux et préparent la plante contre les infections futures. En 1993, il est découvert que le SA est un signal important dans l'induction de la SAR (Gaffney et al. 1993). Cette hormone stimule la voie SAR en favorisant l'expression des gènes *PR*, qui à leur tour rendent la plante tolérante contre une large gamme de pathogènes (Grant and Lamb 2006; Fu and Dong 2013; Ádám et al. 2018).

4. Contournement de la résistance (ETS)

Pour contourner les mécanismes de défense mis en place par les plantes, les agents pathogènes ont acquis la capacité à déjouer la PTI et/ou l'ETI via l'utilisation et la diversification de leurs effecteurs. Ces protéines permettent l'atténuation ou la suppression des réponses de défense primaires permettant ainsi la multiplication de l'agent pathogène, la colonisation des tissus de l'hôte et en conséquence le développement de la maladie. On parle d'ETS pour "Effector Triggered Susceptibility" ou Sensibilité médiée par les Effecteurs (Jones and Dangl 2006; Balmer et al. 2013). En 2020, Mondal et ses collaborateurs démontrent le rôle clés de trois effecteurs Xop ("Xanthomonas outer protein") dans la pathogénèse, permettant l'évitement de la PTI, de *X. axonopodis punicae* (*Xap*) chez le grenadier. En effet les effecteurs XopC2, XopL et XopN suppriment l'induction du dépôt de callose, la production de ROS au niveau du site d'infection, régulent négativement, directement ou indirectement, l'expression de certains gènes de défenses comme *FRK1*, *GST1*, *PR1*, *PR2*, *PR5* et *WRKY29* (Kumar et al. 2016; Mondal et al. 2020), favorisant la prolifération de *Xap* chez le grenadier.

Chez *X. euvesicatoria*, pathogène de la tomate, l'effecteur XopD joue plusieurs rôles dans la mise en place de l'ETS et le développement de la maladie. Kim et ses collaborateurs mettent en évidence l'implication de XopD dans l'altération des voies de signalisation du SA et de l'ET (Kim et al. 2008, 2013). XopD cause une réduction de l'expression des gènes associés aux réponses de défense, ainsi que de la production de SA. Il permet également la répression de la transcription des gènes induits par le SA et le JA, permettant la prolifération bactérienne, se traduisant par un retard du développement des symptômes dans les feuilles de tomates (Kim et al. 2008). Par ailleurs, XopD réprime directement la production d'ET et les défenses stimulées par l'ET en ciblant directement le facteur de transcription (TF) SIERF4 de la tomate. XopD colocalise avec SIERF4 dans les compartiments subnucléaires et effectue une désuoylation de la lysine 53 de SIERF4 causant sa déstabilisation et par conséquent une diminution du niveau de SIERF4 et une réduction de sa transcription (Kim et al. 2013).

En 2018, Medina et ses collaborateurs ont investigué le rôle des effecteurs Xop de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*), pathogène du manioc, dans la virulence et la modulation de l'immunité. Ils rapportent que parmi les 17 ET3 Xop de la souche *Xpm* CIO151, XopR, XopAO1 et AvrBs2 suppriment la PTI, mais que la suppression de l'ETI a seulement été observée par XopE4 et XopAO1. Grâce à l'expression hétérologue de XopR, XopAO1 et AvrBs2 dans *P. fluorescens* 55 (*Pf55*), et l'inoculation de ce dernier sur le tabac, ils démontrent que ces trois Xop provoquent une réduction du dépôt de callose (Medina et al. 2018). Toujours dans le même système hétérologue *Pf55*, les Xop de *Xpm* CIO151 sont testés pour voir leur capacité à réduire la HR provoquée par l'effecteur HopA1 de *Pf55* sur le tabac. Ces expériences montrent que deux d'entre eux, XopE4 et XopAO1 permettent respectivement de diminuer et d'abolir totalement la HR provoquée sur le tabac par HopA1. Chez le riz, le dépôt de callose et la production de ROS sont supprimés par l'effecteur XopR de *Xoo* (Verma et al. 2019).

II. Cartographie génétique et localisation de locus à effet quantitatif (QTL)

Une grande partie des résistances à *X. oryzae* pv. *oryzae*, ainsi qu'à d'autres pathogènes, ont été identifiées par cartographie génétique (Albar et al. 2003; Djedatin et al. 2016; Huerta et al. 2021). Cette méthode, basée sur le taux de recombinaison génétique entre plusieurs loci ou gènes, permet de déterminer la position relative de ces derniers sur un chromosome, ou à plus large échelle sur un génome entier. Son unité de distance est le centimorgan (cM)². Par ailleurs, plusieurs études ayant permis la détection de loci intervenant dans divers mécanismes tels que la résistance à la submersion, aux pathogènes ou encore la floraison, reposent sur la cartographie de locus à effet quantitatif (ou QTL, de l'anglais "Quantitative Trait Locus") (Hirabayashi et al. 2015; Raghavan et al. 2017; Ramakrishnan et al. 2019). Dans les paragraphes suivants sont rappelés brièvement les principes de cette méthode.

1. Généralités sur la cartographie génétique

En génétique un caractère phénotypique peut être gouverné par un ou plusieurs gènes, on parle alors de caractère mono ou polygénique, respectivement. Comme exemple de caractère monogénique connu, il existe celui exposé par Gregor Mendel chez le petit pois (*Pisum sativum* L.). La forme du grain du pois est gouvernée par une seul gène qui, en fonction de sa combinaison d'allèles, donne un pois lisse ou ridé. En ce qui concerne un caractère polygénique, son phénotype est le résultat de

² Rappelons que le cM est l'unité de distance utilisée en cartographie génétique. Elle vaut le centième du Morgan, qui lui-même correspond à la distance entre deux loci, nécessaire pour qu'il y ait en moyenne un "crossing over" entre ces loci par méiose. Pour des distances très faibles, le cM équivaut à une fréquence de recombinaison de 1%. Pour des distances plus élevées, il faut tenir compte des doubles recombinaisons non observées. On utilise alors une fonction de cartographie pour convertir les fréquences de recombinaison en cM, par exemple celles de Haldane ou de Kosambi (Haldane 1931, Kosambi 1944).

l'expression de plusieurs gènes, comme dit précédemment. Dans ce cas, chaque gène contribue en partie au phénotype final observé; on parle alors de loci/locus à effet quantitatif, ou QTL.

Depuis Mendel, et Morgan, on sait qu'il est possible de compter et localiser les facteurs, autrement dit les gènes, qui gouvernent des caractères monogéniques, à phénotypes discrets pouvant être catégorisés en deux ou trois modalités, par exemple les modalités "lisse" et "ridé" chez le pois. Ce sont les travaux pionniers de l'équipe de Morgan qui ont permis d'établir, dès 1913, la première carte de liaison génétique composée de six gènes chez la drosophile (Sturtevant 1913). Une carte de liaison génétique permet de représenter les positions relatives des gènes sur un même chromosome. L'ordre de ces gènes est alors déterminé en fonction de leur groupe de liaison, ce dernier représentant l'ensemble des gènes, loci ou marqueurs qui sont liés entre eux. Cette organisation repose sur une méthode simple basée sur la "force de la liaison" ("strength of linkage"), qui n'est autre que la fréquence de recombinaison.

Cette méthode ne permet pas, cependant, de localiser les facteurs de caractères polygéniques à variation continue, nommés caractères quantitatifs, qui ne peuvent se réduire en catégories. Dans une population issue d'un croisement, la distribution de tels caractères s'approchera d'autant plus d'une distribution normale, aussi appelée gaussienne, que le nombre de facteurs qui les composent est grand. C'est le modèle infinitésimal. En 1923, Sax a été le premier à présenter une méthode permettant d'associer un caractère qualitatif, ou facteur, à un caractère quantitatif, ou variable expliquée. Il montra ainsi que la couleur du grain du haricot commun, *Phaseolus vulgaris*, pouvait expliquer en partie la variation du poids du grain (Sax 1923). Évidemment, ce n'était pas la couleur du grain elle-même qui était liée physiologiquement au poids du grain, mais ce gène devait être lié génétiquement à un autre, qui fut découvert par la suite (Johnson et al. 1996).

2. La détection de QTL

Il s'avère que Sax avait eu un peu de chance, car la probabilité qu'un des rares gènes cartographiés à l'époque chez le haricot soit localisé suffisamment près du facteur réel qui influence le poids du grain était faible. D'autre part, il n'avait pas accès aux autres gènes qui pouvaient être liés aux autres facteurs du poids du grain. Aujourd'hui, cette contrainte est levée puisqu'on établit des cartes génétiques au moyen, non plus de gènes, mais de marqueurs moléculaires dont les premiers représentants furent les isoenzymes, puis des marqueurs directement basés sur les variations de l'ADN (Mackill et al. 1993). Les marqueurs moléculaires sont un type de marqueur génétique défini par une séquence d'ADN particulière utilisée pour baliser les chromosomes. Un marqueur moléculaire possède un emplacement physique identifiable (locus) sur un chromosome, ce qui permet de suivre la transmission d'un segment de chromosome d'une génération à l'autre. Les marqueurs sont utilisés en tant que première étape dans la recherche de la position et de l'identité

d'un gène. Largement utilisés en génétique humaine, végétale, animale et microbienne, ils permettent de montrer des variations (polymorphismes) de la séquence d'ADN entre deux individus. Comme exemple de marqueurs moléculaires on peut citer rapidement les RAPD ("Random Amplification of Polymorphic DNA"), les RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism"), les AFLP ("Amplified Fragment Length Polymorphism"), puis les microsatellites ou SSR ("Simple Sequence Repeat"), et les plus communément utilisés aujourd'hui, les SNP ("Single Nucleotide Polymorphism") (Dar et al. 2019). De par leur abondance, les marqueurs moléculaires présentent l'énorme avantage de pouvoir reconstituer une carte génétique qui couvre l'ensemble du génome, et ceci en analysant la descendance d'un seul croisement. Les SNP se comptent la plupart du temps par millions entre deux génomes d'une même espèce pris au hasard. Dans une étude de QTL moderne, on peut donc compter sur des marqueurs situés "très proche" de tous les facteurs génétiques qui composent le caractère quantitatif. De plus, on peut aussi évaluer la contribution relative, c'est-à-dire la part de variance du caractère expliquée par chacun de ces facteurs. Enfin, dans certains schémas de croisement, on peut estimer pour chacun des facteurs, la relation entre l'additivité et la dominance du locus considéré.

Contrairement aux analyses de type GWAS ("Genome-Wide Association Analysis"), basées sur l'étude des variations génétiques et phénotypiques chez de nombreux individus, la précision de la localisation des QTL dans des descendance issues de croisement peut s'avérer ne pas être très bonne en fonction de la taille de la population. Selon l'ampleur de l'effet d'un QTL sur le caractère, la taille de la population ou encore l'incertitude sur le phénotype, son intervalle de support ("support interval"), c'est-à-dire la taille de la région de haute probabilité de présence du QTL, varie. Ainsi, cet intervalle peut couvrir quelques centaines de kilobases à plusieurs mégabases. En revanche, cette méthode est très robuste, en ce sens qu'elle génère beaucoup moins de faux positifs que le GWAS. Cette approche peut être avantageusement complétée par une étude de cartographie fine, aussi appelée "fine mapping" en anglais, qui permet de localiser le QTL étudié très précisément. La cartographie fine permet d'analyser, dans la région identifiée, les variations génétiques particulières qui sont susceptibles d'influencer de manière causale le trait examiné.

Par la suite, si un génome annoté est disponible pour l'espèce étudiée, on peut alors projeter les bornes du nouvel intervalle de support, largement réduit grâce à la cartographie fine, sur ce génome et en extraire la liste des gènes présents dans cette région. L'annotation fonctionnelle de ces gènes permet ensuite d'identifier ceux qui sont les plus probablement impliqués dans le caractère; on parle de gènes candidats. Ces candidats pourront être testés par des analyses de complémentarité fonctionnelle, en introduisant un gène par transformation génétique, ou par des analyses d'inactivation de fonction, par exemple en créant des mutants dont les gènes candidats sont

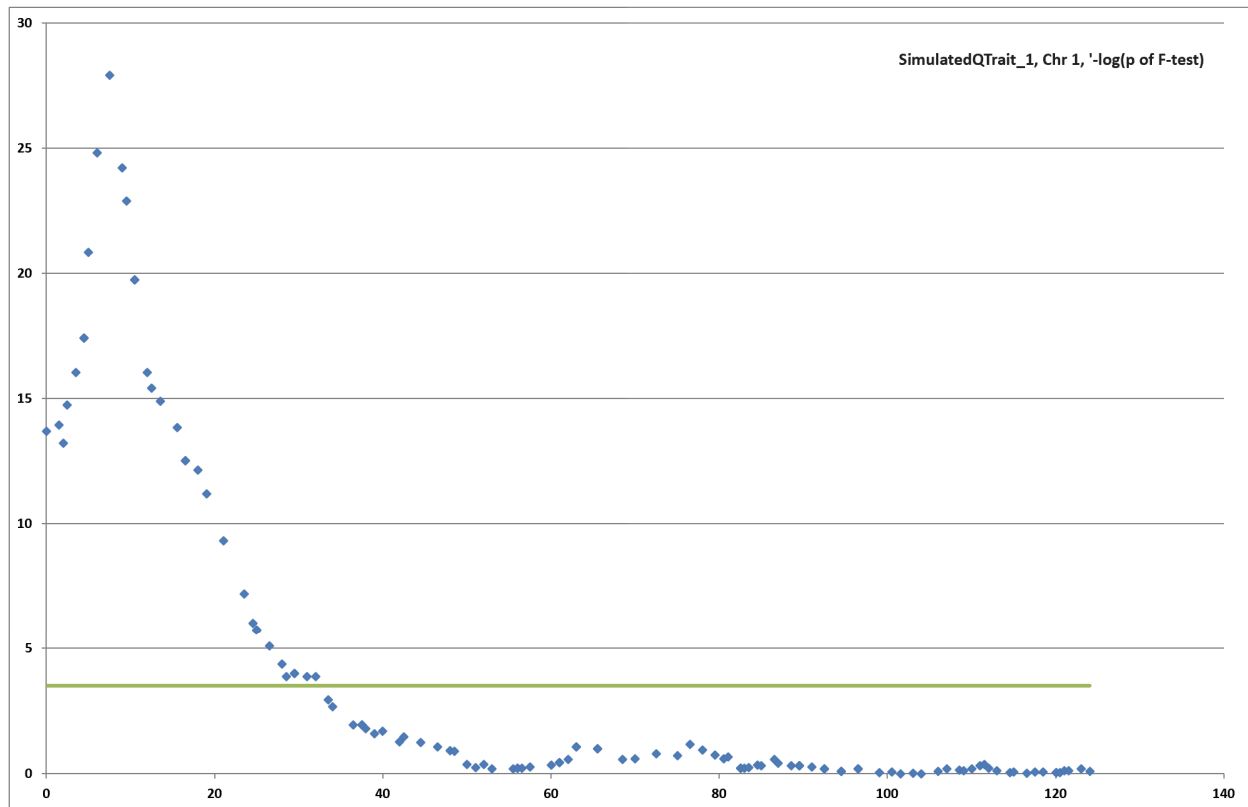


Figure 6. Analyse par "single marker regression" (SMR) d'un caractère hypothétique dans une population F_2 simulée de 100 individus.

L'axe des abscisses représente la position en centimorgans (cM) sur un chromosome, l'axe des ordonnées est la valeur $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F. Le QTL simulé est placé arbitrairement à la position 10 cM. Le chromosome simulé mesure 120 cM. Des marqueurs sont placés tous les 1 cM.

inactivés par réduction de leur expression ("knock down") ou bien par délétion ou mutation ciblée ("knock out"). Dans les deux cas, la validation fonctionnelle du candidat est obtenue si le phénotype du mutant ou du transformant est différent du phénotype sauvage. La porte est alors ouverte pour étudier plus précisément le rôle du gène validé, par des études d'expression/co-expression, de protéomique, etc.

3. Les modèles d'analyses

De très nombreux ouvrages et articles scientifiques ont été consacrés aux études de QTL, sur la partie théorique (les méthodes statistiques) et sur l'application à des organismes pour lesquels on peut effectuer des croisements (plantes, animaux, champignons) ou analyser des familles (Homme). Chez certaines plantes, les pérennes en particulier, les animaux, ou l'Homme, une étude de QTL nécessite souvent de combiner l'information de plusieurs familles, dont l'analyse requiert des modèles statistiques complexes. Chez d'autres plantes, souvent des annuelles comme le riz, on peut générer aisément des lignées pures, puis des descendance à grand effectif à partir d'un seul croisement, ce qui permet d'utiliser des modèles d'analyse bien plus simples mais tout aussi puissants.

Les premières méthodes de QTL étaient basées sur des modèles extrêmement simples (Soller et al. 1976; Edwards et al. 1987). Ces modèles testent l'effet sur le caractère de chaque marqueur pris individuellement ("Single Marker Regression", SMR). Il s'agit tout simplement d'un test F, dans lequel on compare les moyennes phénotypiques, en tenant compte des variances, des deux ou trois, selon le croisement, classes alléliques du marqueur. Si le test F est déclaré significatif, alors on sait que le marqueur est lié au QTL. Le seuil à retenir pour déclarer le test F significatif peut être calculé analytiquement ou empiriquement (permutations). On répète ce test pour tous les marqueurs, éventuellement ordonnés sur les groupes de liaison si on a pu construire la carte génétique. On peut alors construire un graphique où x est la position du marqueur et y est la valeur du test F, ou de $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F. Ce graphique permet de visualiser aisément les pics qui indiquent la présence la plus probable du QTL (Figure 6).

Comme, dans les années 1980, les cartes génétiques étaient construites à partir de marqueurs RFLP, onéreux et chronophages, les intervalles séparant les marqueurs les uns des autres étaient "grands", pouvant atteindre la trentaine de centimorgans. Si, par exemple un QTL est situé dans un intervalle de taille importante, on ne pourra donc pas connaître sa position précise. Lander et Botstein, en 1988, ont posé les fondements de la cartographie par intervalle ("Interval Mapping", ou SIM pour "Simple Interval Mapping"), qui permet d'estimer la position d'un QTL dans un intervalle en utilisant l'information des deux marqueurs qui le définissent (Lander and Botstein 1989). La

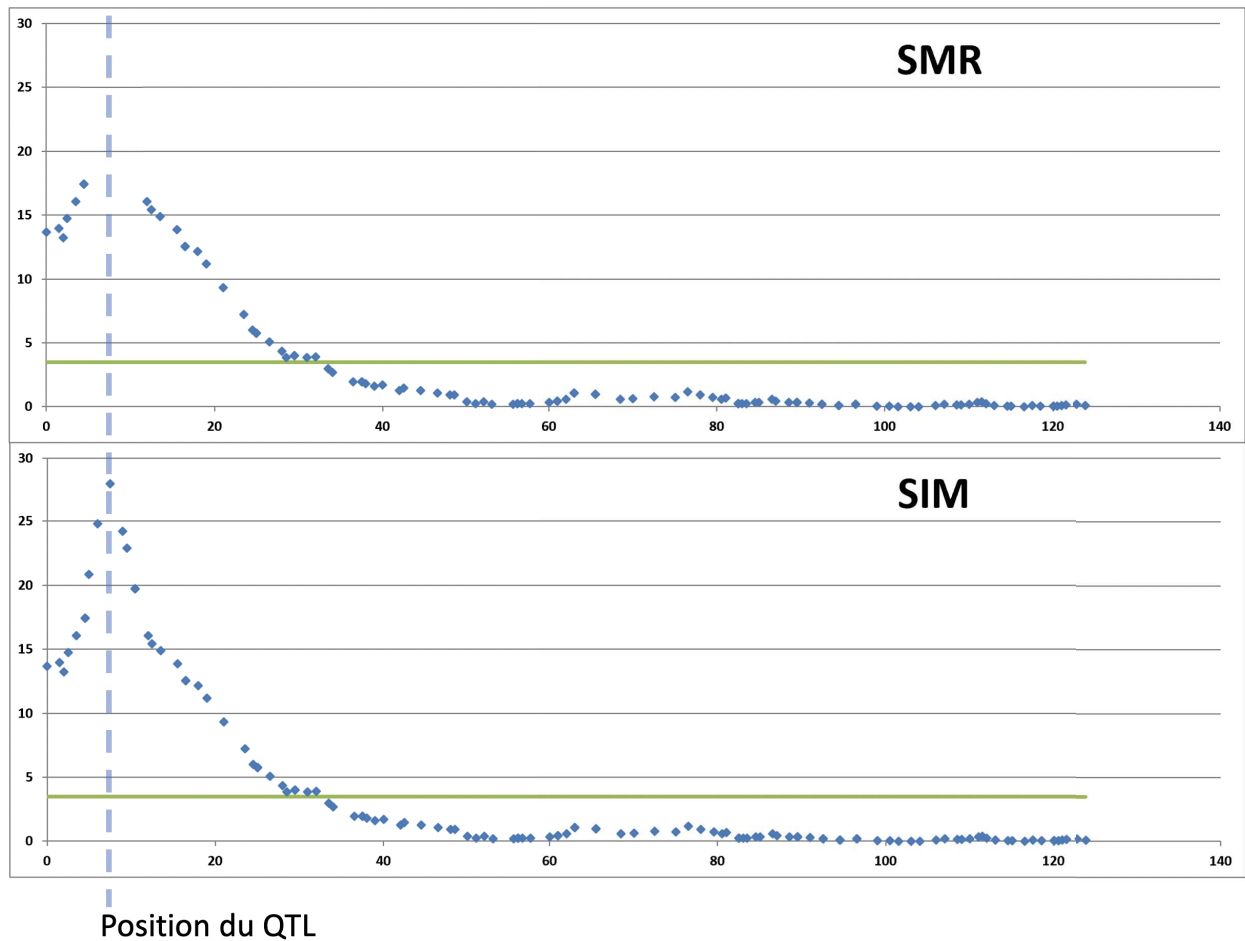


Figure 7. Avantage de l'analyse "simple interval mapping" (SIM) par rapport au SMR.

L'axe des abscisses représente la position en centimorgans (cM) sur un chromosome, l'axe des ordonnées est la valeur $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F (SMR), ou du LOD score (SIM). Les conditions de simulations sont identiques à la Figure 6, excepté que, pour l'analyse SMR, des marqueurs ont été supprimés afin de simuler un intervalle sans marqueurs. La méthode SIM permet de localiser le QTL exactement à la position simulée.

méthode est basée sur la méthode du LOD score, LOD signifiant "Logarithm of the Odds". C'est donc un rapport de vraisemblance, mais calculé avec des logarithmes en base 10. Ce LOD est donc le \log_{10} du rapport de vraisemblance de présence d'un QTL sur la vraisemblance d'absence de QTL. Il est calculé sur une maille de positions prédéfinies (des marqueurs virtuels), par exemple à chaque cM. Puisqu'on ne connaît l'état allélique des chromosomes qu'au niveau des positions des véritables marqueurs, il est nécessaire de l'inférer au niveau de tous les points de la maille. On calcule donc, en chaque marqueur virtuel la probabilité pour chaque individu d'être homozygote pour l'un ou l'autre allèle, ou hétérozygote. Cette probabilité est calculée en fonction de l'état des marqueurs bordants et du phénotype. Le LOD score est alors calculé à partir de ces probabilités et des valeurs phénotypiques. On peut, comme pour l'analyse SMR, représenter graphiquement ce LOD score en fonction de la position sur le chromosome. On voit clairement sur la Figure 7 l'avantage de l'interval mapping par rapport au SMR. Évidemment, l'intérêt de cette méthode est moindre aujourd'hui, puisqu'il devient rare que les cartes ne soient pas bien saturées de marqueurs. Enfin, de nombreuses améliorations ont été apportées à la méthode SIM. En particulier, une famille de méthodes basées sur la prise en compte du "bruit" généré par l'ensemble des facteurs génétiques sur un QTL donné : un QTL peut en effet être masqué partiellement ou totalement par l'effet d'autres QTL. Ces méthodes, dont font partis le "Composite Interval Mapping" (CIM, (Jansen and Stam 1994; Zeng 1994), l' "Inclusive Composite Interval Mapping" (ICIM, (Zhang et al. 2012), ou encore le "Multiple Interval Mapping" (MIM, (Kao et al. 1999), sont toutes basées sur la prise en compte de cofacteurs, qui ne sont autre que les QTL, à l'exception de la région sous analyse. Plusieurs approches sont utilisées pour la détection puis la prise en compte des cofacteurs ("forward", "backward", "stepwise"), ce qui aboutit parfois à des différences conséquentes quant aux QTL détectés et leurs effets.

III. Le riz

1. L'importance du riz dans le monde: une céréale majeure dans l'alimentation

Le riz, *Oryza* spp., est une culture céréalière qui constitue de nos jours la base de l'alimentation pour plus de la moitié de la population mondiale. L'augmentation continue de cette population engendre de nombreux défis pour la production de cette céréale.

En 2018, plus de 165 millions d'hectares étaient consacrés à la production de riz, et plus de 780 millions de tonnes de riz ont été produites dans le monde (Figure 8, FAO 2018). Cette année (2021) la Chine est, comme toujours, le plus grand pays producteur de riz au monde avec 211 090 813 de tonnes de volume de production par an. L'Inde arrive en deuxième position avec 158 756 871 de tonnes de production annuelle et la France avec 81 075 tonnes est classée à 80 (<https://www.atlasbig.com/fr-fr/pays-par-production-de-riz>). A l'heure actuelle les principaux

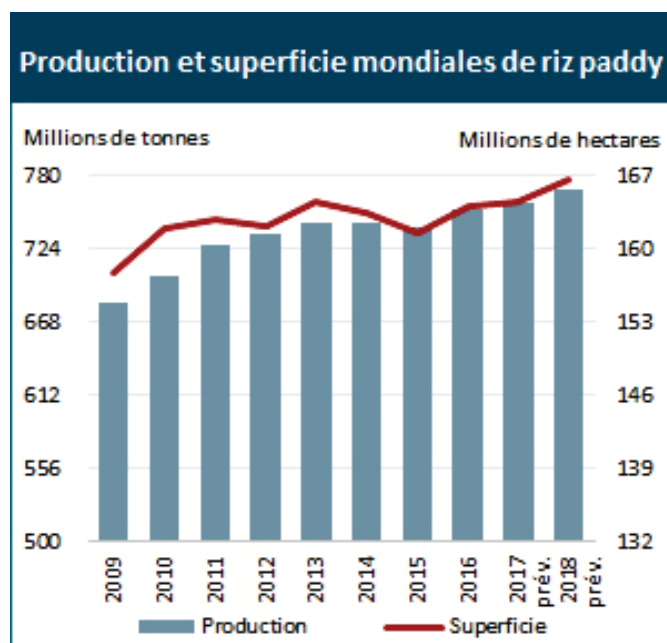


Figure 8. Production et superficie mondiales de riz paddy entre 2009 et 2018.

Suivi du marché du riz de la FAO, Avril 2018 (<http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/riz/fr/>)

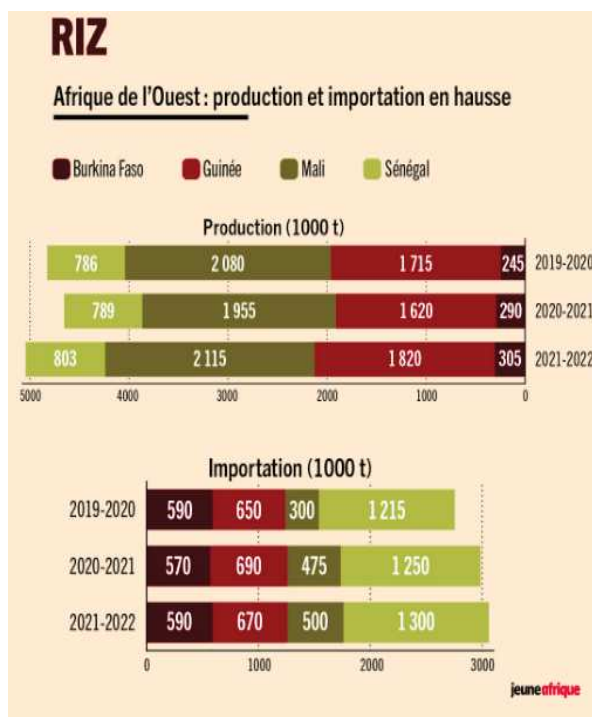


Figure 9. Production et importation du riz en Afrique de l'ouest.

source: <https://www.jeuneafrique.com/1211142/economie/riz-cacao-cafe-coton-lafrique-de-louest-face-a-la-flambee-des-cours/>

exportateurs de riz sont les États-Unis, l'Inde, le Pakistan, la Thaïlande et le Vietnam. La consommation mondiale de riz estimée pour 2020-2021 s'élève à 513 millions de tonnes, pour une consommation par habitant de près de 54 kg par an (FAO 2021). En Afrique de l'Ouest cette année la production de riz s'est vue diminuée, notamment en Guinée et au Mali, tandis que l'importation y était en hausse. Les prévisions pour l'année suivante prédisent cependant une nouvelle augmentation de la production et de l'importation du riz dans les divers pays d'Afrique de l'Ouest (Figure 9). Dans cette région de l'Afrique l'autosuffisance en riz est un sujet qui fait beaucoup parler ces dernières années. Bien que le Nigeria ait réduit de façon significative ses importations entre 2013 et 2019, il reste encore des efforts à faire en matière d'investissements pour amener son agriculture à produire suffisamment afin de parvenir à l'autosuffisance alimentaire. Côté Mali, une quasi-autonomie a réussi à être maintenue avec plus de 3 millions de tonnes de riz produites en 2018, selon la FAO. Concernant le Sénégal et la Côte d'Ivoire, depuis une dizaine d'années maintenant, une stratégie nationale portant sur la culture du riz a été adoptée, permettant de rééquilibrer le ratio importations/production nationale au Sénégal de 80%-20% à 55%-45% en 2018 (<https://www.jeuneafrique.com/mag/1033825/economie/nigeria-senegal-mali-quelles-strategies-pour-atteindre-lautosuffisance-alimentaire/>). Aujourd'hui, un grand nombre de menaces mettent en danger les cultures de riz causant de lourdes répercussions sur les rendements. Parmi elles, on retrouve différents stress biotiques (virus, bactéries, champignons, herbivores, insectes, ...), mais aussi une panoplie de stress abiotiques (sécheresse, inondation, pollution des sols en métaux, ...). Ces menaces représentent un enjeu majeur pour la sécurité alimentaire mondiale, il devient donc indispensable de combiner nos connaissances en science du végétale et en pratiques agricoles pour éviter ces énormes pertes de rendement.

2. Le genre *Oryza*

a) Généralités

Le riz, tel qu'on le connaît, est une monocotylédone de la famille des Poacées, principalement cultivée dans les zones tropicales, subtropicales et tempérées chaudes. Cette famille est divisée en deux clades, PACMAD (*Panicoideae*, *Aristidoideae*, *Chloridoideae*, *Micrairoideae*, *Arundinoideae* et *Danthonioideae*) et BOP (*Bambusoideae*, *Oryzoideae*, *Pooideae*), et comprend environ 12 000 espèces, dont des espèces cultivées telles que le sorgho, le maïs, le blé et le riz. La sous-famille des *Oryzoideae* se compose elle-même de quatre tribus (*Streptogyneae*, *Ehrharteae*, *Phyllorachideae*, *Zizaniinae* et *Oryzinae*) dont l'une d'elle, *Oryzinae*, héberge les genres *Oryza* et *Leersia*, très proches taxonomiquement (Soreng et al. 2015).

Le genre *Oryza*, auquel appartient le riz, comprend 27 espèces dont les deux seules cultivées à l'heure actuelle sont *O. glaberrima* et *O. sativa*, domestiquée respectivement en Afrique et en Asie.

Ces 27 espèces d'*Oryza* comprennent 11 types de génomes différents, dont six sont diploïdes ($n = 12$: AA, BB, CC, EE, FF et GG) et cinq sont polyploïdes ($n = 24$: BBCC, CCDD, HHJJ, HHKK et KKLL). Parmi ces espèces huit possèdent un génome AA : les espèces sauvages *O. longistaminata*, *O. meridionalis*, *O. glumaepatula*, *O. barthii*, *O. nivara* et *O. rufipogon*, et les deux espèces cultivées *O. glaberrima* et *O. sativa* (Stein et al. 2018). Même si des barrières d'hybridation sont présentes entre ces différentes espèces, il arrive que le croisement interspécifique soit possible si des conditions favorables sont réunies. Par conséquent, la diversité des espèces possédant le génome A procure une ressource génétique importante, que l'on peut exploiter pour l'amélioration variétale.

b) Caractéristique des deux espèces cultivées

- *Oryza glaberrima*

En Afrique de l'Ouest, le riz sauvage *O. barthii* a été domestiqué de manière indépendante, par rapport à *O. sativa*, pour devenir le riz cultivé *O. glaberrima* il y a environ 3 000 ans (Vaughan et al. 2008). Deux grandes hypothèses contradictoires ont été proposées concernant sa domestication en Afrique. La première hypothèse, émise par Porter en 1962, propose une domestication centrée, géographiquement localisée, le long du fleuve Niger, suivie de deux événements de diversification secondaire : l'un le long de la côte de ce qui est aujourd'hui le Sénégal et la Gambie, et l'autre dans les hautes terres de Guinée (Porter 1962). C'est ce qu'on a appelé le "modèle de transition rapide". L'autre hypothèse, émise par Harlan en 1976, propose que le riz africain et d'autres cultures telles que le sorgho et le millet perlé ont subi une domestication graduelle et parallèle dans différentes régions d'Afrique, géographiquement diffuse, non-centrée par opposition à la domestication centrée, et ont donc eu des origines multiples. Selon sa théorie, la domestication du riz africain a suivi un "modèle de transition prolongée" par opposition au "modèle de transition rapide" (Fuller 2007; Allaby et al. 2008; Meyer et al. 2016; Purugganan 2019).

O. glaberrima possède une diversité génétique moindre, en comparaison à *O. sativa*, dû notamment à deux goulots d'étranglement (Orjuela et al. 2014; Wang et al. 2014b). Le premier ayant eu lieu lors de la divergence des espèces asiatiques et africaines, et le deuxième lors du processus de domestication. On retrouve cependant des variations génétiques qui traduisent une diversité de morphologies adaptées à des conditions écologiques différentes, avec notamment des variétés flottantes et des variétés pluviales de plaine ou de montagne (Semon et al. 2005). D'une manière générale, *O. glaberrima* présente des grains de petite taille, en forme de poire, avec un son rouge et une enveloppe de graine d'une couleur allant de l'olive au noir, des panicules droites et simplement ramifiées, et des ligules courtes et arrondies, cependant certaines variétés d'*O. glaberrima* peuvent avoir des ligules pointues (Linares 2002). Dans l'ensemble, les rendements d'*O. glaberrima* sont

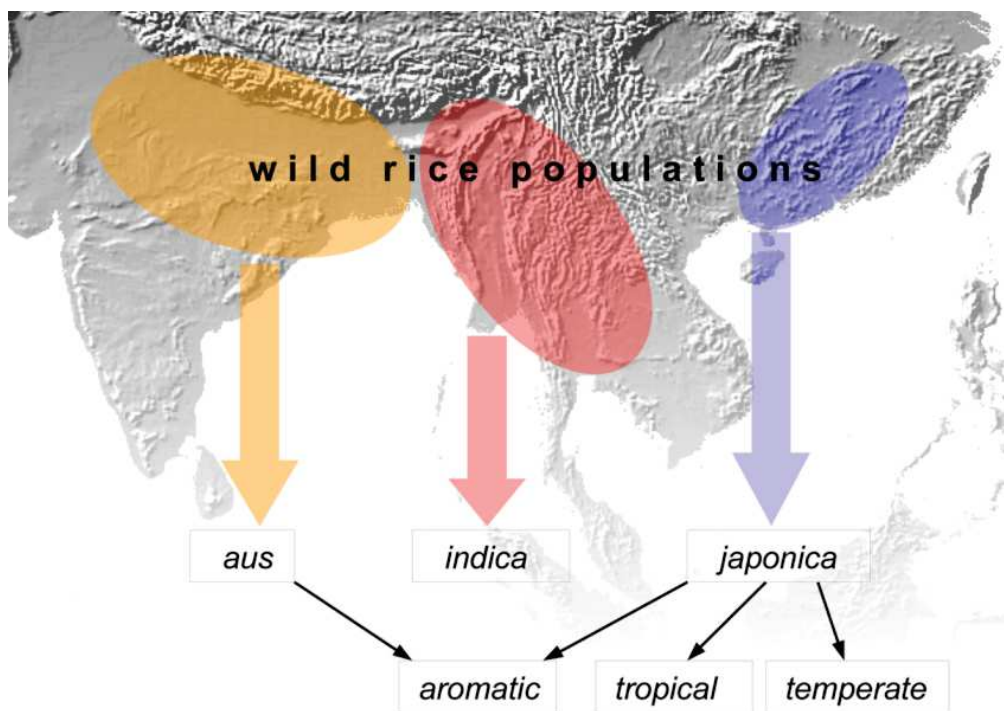


Figure 10. Schéma de l'origine du riz domestiqué d'après (Civan et al. 2015).

Les sous-espèces d'*Oryza sativa indica*, *japonica* et *aus* proviendraient de domestications dans des lieux différents (Sud-Est et Sud de l'Asie). Selon Civan et ses collaborateurs (2015) c'est l'hybridation ultérieure entre les sous-espèces *japonica* et *aus* qui aurait donné le riz *aromatic*, et les deux versions de *japonica* : tempérée et tropicale, seraient apparues plus tardivement.

plus faibles que ceux d'*O. sativa*, toutefois l'espèce *O. glaberrima* se fait remarquer par sa capacité d'adaptation à la sécheresse, à la toxicité en fer et aux sols infertiles, mais aussi par une meilleure résistance aux maladies et aux insectes ravageurs (Linares 2002; Albar et al. 2003). Aujourd'hui la culture d'*O. sativa* a remplacé quasiment la totalité des cultures d'*O. glaberrima* en Afrique, cependant cette dernière prospère dans un contexte plus traditionnel où elle est utilisée dans des offrandes rituelles pour honorer les ancêtres, plutôt que pour la consommation (Van Andel 2010).

- *Oryza sativa*

Le riz *O. sativa* provient de la domestication de l'espèce de riz sauvage *O. rufipogon* qui aurait eu lieu il y a environ 9 000 ans (Vaughan et al. 2008). Cependant, l'histoire de sa domestication est un domaine controversé (Gross and Zhao 2014). Selon Huang et ses collaborateurs (2012) le riz *O. sativa* ssp. *japonica* aurait été domestiqué pour la première fois à partir d'une population spécifique d'*O. rufipogon* autour de la zone centrale de la rivière des Perles dans le sud de la Chine, et le riz *O. sativa* ssp. *indica* aurait ensuite été développé à partir de croisements entre le riz *japonica* et le riz sauvage local lorsque les cultivars initiaux se sont répandus dans le sud-est et le sud de l'Asie. Comme la domestication est supposée s'être produite une fois dans une seule sous-population et s'être propagée aux autres sous-populations par hybridation, cette domestication est définie comme le modèle de domestication unique *de novo* avec introgression (Huang et al. 2012). D'un autre côté Civán et ses collaborateurs (2015) soutiennent que des domestications distinctes auraient donné les types de riz *indica*, *japonica* et *aus*, ces domestications ayant eu lieu dans différentes régions du sud-est et du sud de l'Asie. L'hybridation ultérieure entre le *japonica* et l'*aus* aurait donné le riz *aromatic*, et les versions "tempérée" et "tropicale" du *japonica* auraient évolué ultérieurement (Figure 10, (Civán et al. 2015).

O. sativa compte aujourd'hui cinq sous-populations (*indica*, *aus*, *aromatic*, *japonica tempérée* et *japonica tropicale*) (Garris et al. 2005). Cette espèce se caractérise par une pilosité des glumelles (absente chez *O. glaberrima*), des panicules retombantes avec des ramifications secondaires, et des ligules larges, cependant certaines variétés d'*O. sativa* ont également des grains en forme de poire avec un son rouge (Linares 2002). C'est aux alentours du 16^e siècle que les premières variétés de riz asiatiques ont été introduites sur le continent Africain par les navigateurs portugais (Sweeney and McCouch 2007). Depuis, les cultures de riz asiatiques ne cessent de prendre de l'envergure en Afrique de l'Ouest, et remplacent indéniablement la quasi-totalité des cultures de riz africains.

3. Les ressources génétiques et génomiques disponibles

Le riz est considéré comme une espèce modèle pour les céréales, à la fois car son génome est relativement petit et parce qu'il est étudié depuis très longtemps. La taille de son génome est de 400

à 430 millions de paires de bases (Mbp), bien plus petite que des céréales telles que le blé ou le maïs, mais trois fois celle d'*A. thaliana* (Arumuganathan and Earle 1991). Grâce à la relative conservation de l'agencement et de la composition des gènes entre les espèces, les travaux menés sur le génome modèle d'*O. sativa* bénéficient aux autres céréales cultivées, en particulier le blé et le maïs. De plus, outre le fait que le riz soit un modèle génomique, il possède aussi un intérêt agronomique mondial puisqu'il fait partie de l'alimentation de base de près de la moitié de la population mondiale.

a) Ressources génétiques

On estime qu'il existe plus de 140 000 variétés d'*O. sativa*, y compris des variétés primitives ("landraces") et des variétés améliorées (Jackson 1995), constituant une composante importante du patrimoine génétique du riz.

L'IRRI (International Rice Genebank) abrite le plus grand dépôt de diversité génétique du riz au monde, avec plus de 132 000 accessions de riz sauvages et cultivés provenant du monde entier (<http://irri.org/our-work/research/genetic-diversity/international-rice-genebank>), qui participent à l'amélioration des cultivars de riz.

Une partie des variétés d'*O. glaberrima* et *O. barthii*, provenant d'une collection de plus de 3 000 accessions, a été regroupée à l'IRD de Montpellier afin d'être analysée (Orjuela et al. 2014).

Jung et ses collaborateurs (2008), dans le but de caractériser la grande quantité de gènes de l'espèce *O. sativa* dont les fonctions sont encore inconnues, ont créé environ 500 000 lignées mutantes, le total combiné de cinq populations mutantes, possédant une à dix copies de mutations par lignée. Si les insertions étaient réparties uniformément dans le génome, on pourrait prévoir que cette collection de mutants cible 99 % des loci du riz (Jung et al. 2008).

Par ailleurs, les espèces sauvages de riz contiennent de nombreux traits agronomiques utiles mais une grande majorité de ces traits restent inexploités à ce jour car ils n'ont pas encore été tous identifiés, mais aussi car il est souvent difficile de les transférer dans le riz cultivé (*O. sativa* L.). Dans le but de détecter des gènes ou QTL d'intérêt et de les introduire dans les variétés cultivées, diverses lignées d'introgession et recombinantes ont été générées, représentant un matériel génétique puissant de détection :

- Les **NIL ("Near Isogenic Lines")** sont des lignées quasi-isogéniques qui sont souvent le produit de programmes de sélection végétale dont l'objectif est l'introgession d'un caractère ou d'un trait (gène) souhaitable d'un parent donneur. Les lignées quasi-isogéniques sont générées par un processus de rétro-croisement répété avec sélection du caractère souhaité à

chaque cycle de croisement. Par exemple les lignées de type IRBB sont obtenues à partir de rétro-croisements successifs entre des variétés donneuses portant des gènes de résistance à *X. oryzae* pv. *oryzae* (gènes *Xa*) d'intérêt et la variété récurrente universellement sensible IR24 (sous-espèce *indica*). Les IRBB ne se différencient d'IR24 que par la région qui porte le gène d'intérêt.

➤ Les **RIL ("Recombinant Inbred Lines")** sont des lignées consanguines produites par autofécondation, à partir d'individus F_2 dérivés du croisement entre deux lignées parentales. Le génome de chaque lignée est un réassortiment aléatoire des génomes des deux lignées parentales, en proportions statistiquement égales, fixé à l'état homozygote. Les inconvénients des RIL sont qu'il faut au moins six générations pour obtenir une lignée consanguine et, qu'il est impossible d'estimer les effets de dominance des loci à effet quantitatifs (QTL) cartographiés en raison de l'absence de génotypes hétérozygotes. Cependant, l'avantage des RIL est que, parce qu'elles ne sont composées que d'homozygotes, elles sont stables et peuvent donc être utilisées dans des expériences avec des réplifications dans plusieurs environnements, ce qui permet des estimations plus précises des composantes génétiques et l'identification des interactions entre les QTL et l'environnement. De plus, comme plusieurs cycles de méiose se produisent pendant le développement de ces lignées, il existe des possibilités de recombinaison entre des loci étroitement liés (Silva et al. 2007).

➤ Les **CSSL ("Chromosome Segment Substitution Lines")** sont une série de lignées d'introgession produites par le croisement et le rétro-croisement d'un parent donneur et d'un parent receveur. Chaque CSSL porte un ou plusieurs segments de chromosomes du parent donneur dans le fond génétique du parent récurrent, éliminant ainsi le bruit de fond génétique. L'ensemble des lignées couvre alors toute l'information du génome du parent donneur dans le fond génétique du parent receveur. L'utilisation des CSSL permet la détection de QTL avec des effets mineurs additifs qui sont toujours masqués dans les populations primaires F_2 ou RIL (Ali et al. 2010).

Dans le programme de croisement pour développer des lignées CSSL de riz, le parent récurrent, qui est généralement une espèce cultivée, est utilisé comme femelle, tandis que le parent donneur, généralement une espèce sauvage, est utilisé comme mâle afin d'éviter la stérilité cytoplasmique dans les générations suivantes (Ali et al. 2010). En plus d'être un outil efficace pour l'introgession de gènes d'espèces sauvages vers les espèces cultivées et le transfert ultérieur de gènes vers des cultivars commerciaux, les CSSL ont été utilisés pour

l'introgession de gènes d'une sous-espèce à l'autre, en particulier entre les groupes variétaux *indica* vers *japonica* et inversement.

- Les populations de type **BIL ("Backcross Inbred Lines")**, comme les CSSL, peuvent être utilisées pour introduire des gènes d'intérêt provenant d'espèces sauvages dans le fond génétique de riz cultivés. Les populations de type BIL ne sont pas développées avec le concept de couvrir le génome entier du donneur, contrairement aux populations CSSL qui sont fondamentalement conçues pour récupérer le génome entier du donneur. Les BIL sont caractérisées par une faible proportion de parent donneur dans chaque lignée et elles sont bien adaptées à la cartographie de la variation interspécifique. Comme chaque lignée ne porte qu'une petite fraction du génome de l'espèce sauvage, la plupart des problèmes de fertilité peuvent être éliminés et les traits associés au rendement peuvent être mesurés (Eshed and Zamir 1995). Le développement de BIL, comme celui de CSSL, implique le croisement de l'espèce sauvage contenant les gènes d'intérêt avec un parent cultivé. L'hybride F1 est rétro-croisé avec le parent cultivé et les plantes BC1F1 produites sont rétro-croisées avec le parent cultivé pour générer des plantes BC2F1, etc.
- Les populations de type **MAGIC ("Multi-parent Advanced Generation Inter-Cross")** sont générées en croisant n lignées pendant $n/2$ générations jusqu'à ce que toutes les variétés fondatrices soient combinées avec des proportions égales dans les croisements. Cette ressource puissante capture donc la diversité génétique de plusieurs variétés qui ont été recombinaisonnées sur plusieurs générations pour créer une population avec une grande diversité phénotypique idéale pour la cartographie à haute résolution de QTL d'intérêt. Ce type de population est souvent utilisée pour les études de génomique d'association, aussi appelées GWAS ("Genome-Wide Association Study"), permettant d'étudier un grand ensemble diversifié de génomes (Bandillo et al. 2013; Raghavan et al. 2017). Les populations de type MAGIC ont un double objectif : des populations de cartographie permanente pour la cartographie précise des QTL et une utilisation directe et indirecte dans le développement des variétés. Contrairement à un ensemble de germplasmés naturellement diversifiés, cette population est faite sur mesure pour les sélectionneurs avec une combinaison de traits utiles dérivés de multiples lignées de sélection d'élite. Les populations de type MAGIC offrent également la possibilité d'étudier les interactions entre les introgressions génomiques et la recombinaison chromosomique (Bandillo et al. 2013).

b) Ressources génomiques

- Séquençage de génomes de riz

En 1997, "the International Rice Genome Sequencing Project" (IRGSP), qui regroupe 11 nations, commence le séquençage du génome de la variété de riz *O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare, choisi comme modèle commun pour l'ensemble des pays de l'IRGSP. Ce séquençage est effectué, selon l'approche "clone-by-clone", aussi appelée "mapped clone sequencing strategy". Elle consiste au séquençage de longs fragments d'ADN principalement à partir de banques génomiques de BAC ("Bacterial Artificial Chromosomes") ou PAC ("P1-derivative Artificial Chromosomes"). Chaque séquence est rendue disponible sur des bases de données publiques, même si non annotée, comme "DNA Data Bank of Japan" (DDBJ), GenBank ou encore "the European Molecular Biology Laboratory" (EMBL) (Sasaki and Burr 2000).

En 2002, grâce à une même approche de "whole-genome shotgun sequencing", deux équipes séquencent respectivement le génome d'*O. sativa* L. ssp. *indica* 93-11 (Yu et al. 2002) et d'*O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare (Goff et al. 2002). Ces deux premières publications des séquences génomiques du riz ont ouvert la voie à tous les efforts futurs. Depuis, ces génomes ont été améliorés avec l'arrivée de nouvelles techniques de séquençage, comme par exemple le séquençage par Illumina (Kawahara et al. 2013) et PacBio (Zhang et al. 2018).

Au cours des années 2014 et 2015 les génomes de deux variétés d'*O. glaberrima* ainsi que ceux des espèces sauvages *O. barthii*, *O. nivara*, *O. meridionalis*, *O. punctata*, *O. rufipogon*, *O. glumaepatula* et *O. brachyanta* ont été mis à disposition sur la base de données Ensembl (<https://plants.ensembl.org/>) (Jacquemin et al. 2013; Cunningham et al. 2015; Kersey et al. 2016). Depuis avril 2022 cette plateforme regroupe 122 génomes de plantes.

En 2012, "the International Rice Genomics INitiative" (IRIGIN) coordonné par l'IRD, en collaboration avec le CIRAD, le CIAT (Colombie, centre du CGIAR) et l'AfricaRice (organisme panAfricain du CGIAR), le tout au sein du Mégaprogramme GRiSP (Global Rice Science Partnership, CGIAR) est mis en place. L'IRIGIN est la contribution française au programme de séquençage massif des riz, initié par l'IRRI ("International Rice Research Institut", Philippines, centre du CGIAR) et le BGI ("Beijin Genomic Institut", Chine) qui ont réalisé le séquençage de 3 000 variétés de riz asiatiques. L'IRIGIN est un programme qui vise à fournir un large éventail de ressources génomiques pour les riz africains cultivés et sauvages, ainsi que pour diverses lignées de riz asiatiques présentant un intérêt agronomique ou scientifique (<https://www.france-genomique.org/projet/irigin-international-rice-genome-initiative/>). Le séquençage de nombreux génomes de riz permet l'identification de plusieurs millions de SNP, qui peuvent être visualisés via diverses plateformes.

- Visualisation des SNP chez *O. sativa*

Plusieurs outils de visualisation des SNP dans les génomes du riz ont été mis en place afin de faciliter l'étude de cette céréale; ci-dessous une liste d'exemples des ressources disponibles.

Le projet OryzaSNP (www.OryzaSNP.org) a été lancé dans l'idée de découvrir les variations génétiques au sein de 20 variétés de riz (au départ), appartenant principalement aux sous-espèces *japonica* et *indica*. Ce projet a pour but de déterminer la variation en SNP présente au sein de 100 Mb de génome de riz, représentant environ 80% de portion non répétitives des 390 Mb du génome de référence Nipponbare. OryzaSNP a permis la découverte de 159 478 SNP non redondants répartis au sein des génomes présents dans le jeu de données OryzaSNP (McNally et al. 2009).

La base de données HapRice (<http://qtaro.abr.affrc.go.jp/index.html>) permet de visualiser la fréquence allélique de tous les SNP présents dans 76 accessions de la collection mondiale de riz (3 334 SNP) et dans 177 accessions de riz japonais (3 252 SNP). Au sein de cette base de données des outils web pour trouver des SNP polymorphes entre deux accessions de riz et pour concevoir des amorces afin de développer des marqueurs de séquences polymorphes à n'importe quel SNP, ont été développés (Yonemaru et al. 2014).

RiceVarMap ("Rice Variation Map", <http://ricevarmap.ncpgr.cn>) est une base de données des variations génomiques du riz. La base de données fournit des informations complètes sur 6 551 358 SNP et 1 214 627 insertions/délétions (InDel) identifiés à partir des données de séquençage de 1 479 accessions de riz. La base de données fournit également des détails géographiques et des images de phénotypes pour diverses accessions de riz. De plus, elle fournit des outils pour construire des réseaux d'haplotypes et concevoir des amorces PCR en tenant compte des variations génomiques connues environnantes. Ces données et outils sont très utiles pour explorer les variations génétiques et pour les études d'évolution du riz et d'autres espèces (Zhao et al. 2015).

- Bases de données regroupant l'accès aux ressources génétiques et génomiques du riz

Le projet OMAP (*Oryza* Map Alignment Project) a été mis en place par Wing et ses collaborateurs (2005) dans le but de libérer le potentiel génétique du riz sauvage. Pour cela les BAC/STC de 11 espèces de riz sauvage et du génome de référence *O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare ont été utilisés pour construire et aligner les cartes physiques de ces 12 génomes, afin de comparer leur organisation génomique. Les 11 espèces de riz sauvage comprennent 9 types de génomes différents et incluent 6 génomes diploïdes (AA, BB, CC, EE, FF et GG) et 4 génomes tétraploïdes (BBCC, CCDD, HHKK et HHJJ) avec une large distribution géographique et une adaptation écologique (Wing et al. 2005).

Gramene (<http://www.gramene.org>) est un portail unique permettant de trouver de la documentation, des ensembles de données génétiques et génomiques liés à des cartes, des

marqueurs, des gènes, des génomes et des loci à caractères quantitatifs, sur plusieurs graminées de la famille des Poacées (e.g. le riz, le maïs, le sorgho, le blé ou encore l'orge). Plusieurs outils sur Gramene facilitent le potentiel d'analyse comparative entre les graminées et contribuent à notre compréhension de l'anatomie, du développement, des réponses environnementales et des facteurs influençant la performance agronomique des cultures céréalières (Jaiswal et al. 2006).

OryGenesDB (<http://orygenesdb.cirad.fr/>) est une base de données dédiée à la génétique inverse du riz, sur laquelle des mutants d'insertion des gènes du riz y sont catalogués. Cette base de données contenait déjà 44 166 mutants en 2006 (Droc et al. 2006).

Oryzabase est une base de données contenant des informations sur le développement et l'anatomie du riz, les mutants du riz et les ressources génétiques, notamment pour les variétés sauvages de riz (Kurata and Yamazaki 2006).

Il existe aussi le "Rice Genome Annotation Project" (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) qui permet de visualiser les différents chromosomes des génomes de riz d'*O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare et d'*O. sativa* ssp. *indica* 93-11, ainsi que les gènes qui y sont annotés.

c) Amélioration variétale

Comme dit précédemment, *O. glaberrima* est aujourd'hui généralement cultivée en Afrique de l'Ouest, sur de petites surfaces, en raison de son rendement plus faible par rapport à *O. sativa*. Pourtant, elle est plus adaptée aux conditions de culture rustiques africaines que *O. sativa* (Linares 2002) et présente de multiples résistances et tolérances à différents stress biotiques comme abiotiques (Linares 2002; Albar et al. 2003). Ainsi, malgré son faible niveau supposé de diversité génétique, *O. glaberrima* est un outil très précieux pour l'amélioration de *O. sativa*, par le biais de l'hybridation interspécifique. Cependant, une forte barrière de stérilité, principalement dirigée par le locus S_I (Sano 1990; Garavito et al. 2010), existe entre ces deux espèces divergentes, ce qui complique l'utilisation d'*O. glaberrima* dans la sélection d'*O. sativa*. Néanmoins, il est possible d'obtenir des variétés hybrides fertiles par sauvetage d'embryons ou par fertilisation manuelle et rétro-croisement, comme cela a été fait pour la production des variétés NERICA (NEw RICE for Africa, (H. Gridley 2002). Les variétés NERICA sont devenues le premier succès à grande échelle du croisement des deux espèces cultivées. Il en existe deux types: les NERICA de plateau (upland) et les NERICA de bas-fond (lowland, NERICA-L), adaptés aux environnements pluviaux ou irrigués. Au total, il existe maintenant 82 variétés NERICA, 18 variétés de plateau, 60 variétés de bas-fond pluvial et 4 variétés irriguées. Les variétés NERICA pour les différentes écologies de riz constituent un bien public international important. En général, ces variétés ont une durée de croissance plus courte que les variétés existantes, ce qui permettrait aux cultures de riz d'échapper à la sécheresse qui a un impact négatif sur le rendement. Elles faciliteraient également la pratique de

systèmes de culture diversifiés en rotation avec les cultures de riz, tels que la culture de riz-légumineuse, la culture de riz de couverture et d'autres systèmes similaires, afin de maintenir la fertilité du sol et donc le rendement du riz pluvial (Nguyen VN 2003). Les premières variétés NERICA ont été homologuées en Côte d'Ivoire en 2000. Le développement des NERICA de plateau a valu à l'AfricaRice¹ plusieurs récompenses internationales, dont le Prix mondial de l'alimentation décerné en 2004 à Monty Jones (<https://www.africarice.org/nerica>).

Le germplasma des riz cultivés, comme dit précédemment, peut aussi être élargi par l'hybridation des cultivars avec des espèces sauvages, des variétés primitives ainsi que par des croisements intra-sous-spécifiques afin d'augmenter le potentiel de rendement du riz. Voici quelques exemples de croisements et/ou d'introgessions de gènes ayant permis l'amélioration du riz :

- Xiao et ses collaborateurs (1996) ont signalé que certains rétro-croisements, résultant d'un croisement entre une accession d'*O. rufipogon* de Malaisie (IRGC 105491) et une variété de riz cultivé (V20A), ont donné un rendement supérieur de 18 % au parent récurrent (Xiao et al. 1996).
- Les gènes *Bt*, provenant de la bactérie *Bacillus thuringiensis*, codant pour des toxines, ont été introduits dans le riz pour lutter contre le foreur jaune de la tige ("yellow stem borer"), un insecte très répandu en Asie (Datta et al. 1997). Xu et ses collaborateurs (1996) ont signalé que le riz transgénique portant le gène du niébé inhibiteur de la trypsine (*Cpti*) présentait une résistance accrue au foreur de la tige ("steam borer") et au foreur de la tige rose ("pink stem borer") (Xu et al. 1996).
- Des gènes de résistance à la pyriculariose et à la bactériose du riz ont été transférés d'une accession de riz sauvage d'*O. minuta* (Acc 101141) pour améliorer le germplasma du riz cultivé *O. sativa* (IR31917-45-3-2) (Brar and Khush 1997). Les gènes *ots A* et *ots B* de la biosynthèse du tréhalose, provenant d'*Escherichia coli*, ont été introduits dans le riz et les lignées de riz transgéniques avaient une tolérance accrue aux stress abiotiques tels que la sécheresse et la salinité (Garg et al. 2002).
- En 2003, Potrykus a rapporté le développement réussi d'un riz génétiquement modifié qui contient plus de provitamine A (communément appelé "riz doré"). En utilisant des techniques de transformation médiées par *Agrobacterium* il a transféré des gènes de jonquille (*Narcissus pseudonarcissus*) et de la bactérie *Erwinia uredovora* au riz (Potrykus

¹ AfricaRice, anciennement connu sous le nom d'Association pour le développement de la riziculture en Afrique de l'Ouest, est une association intergouvernementale panafricaine et une organisation de recherche du CGIAR, dont le siège est actuellement à Abidjan, en Côte d'Ivoire.

2003). De même, le gène de la ferritine du soja a été transféré dans le riz pour augmenter sa teneur en fer (Goto et al. 1999).

- Les plantes C4 telles que le maïs et le sorgho sont plus productives que le riz et le blé C3 car les plantes C4 sont 30 à 35% plus efficaces dans la photosynthèse. Depuis 2001, Matsuoka et ses collaborateurs essaient de modifier la photosynthèse du riz de la voie C3 à la voie C4 en introduisant des gènes clonés du maïs dans le riz. En cas de succès, le potentiel de rendement du riz pourrait augmenter de 30 à 35 % (Matsuoka et al. 2001).

4. Les menaces des cultures de riz

La croissance continue de la population, donc de la consommation, impose d'énormes demandes au niveau des ressources naturelles. Il devient nécessaire d'augmenter la production agricole pour répondre aux besoins alimentaires futurs (Godfray et al. 2010; Foley et al. 2011; Palmgren et al. 2015). Une solution pour augmenter la production alimentaire, sans augmenter la surface cultivée, et sans dégrader les terres, l'eau et la biodiversité, serait l'introgession dans les cultures de gènes de résistance connus pour lutter contre les stress biotiques et abiotiques auxquelles elles sont exposées.

a) Stress abiotiques

L'eau, de par sa trop grande présence ou son absence, constitue le principal facteur de menace des production. Bien que le riz soit considéré comme une culture tolérante aux inondations, seuls quelques cultivars présentent une tolérance à une submersion prolongée (Niroula et al. 2012), la plupart mourant dans les 14 jours suivant une submersion complète. D'un autre côté, la sécheresse cause aussi d'énormes dommages sur les plantes (Krannich et al. 2015), en particulier chez le riz, qui y est sensible car il est acclimaté à des champs soit pluviaux, soit entièrement irrigués. L'effet de la sécheresse peut varier en fonction des différents génotypes, des stades de développement, de la température et de la durée du stress (Wang et al. 2011). La **salinité** est aussi l'un des stress abiotiques les plus dévastateurs pour le riz, et les sols affectés par le sel représentent actuellement environ 20 % de la surface totale de plantation de riz paddy (Zhou et al. 2016). La salinité du sol a des effets négatifs sur la germination, la résistance aux maladies et le rendement des plantes (Munns and Tester 2008). Le **stress dû au froid** est l'un des principaux facteurs environnementaux limitant la croissance, la productivité et la distribution géographique des cultures, principalement dans les zones tempérées et de haute altitude, en raison de l'origine tropicale du riz cultivé (Cruz et al. 2013; Zhang et al. 2014). Les basses températures peuvent affecter la croissance et le développement des plants de riz à tous les stades de développement, de la germination au remplissage des grains. Les basses températures qui surviennent aux stades critiques de la reproduction peuvent nuire à la qualité des grains (maturation incomplète des grains) ou entraîner des baisses de rendement (Jena et

al. 2012; Cruz et al. 2013; Zhang et al. 2014). Les cultures de riz peuvent aussi être soumises à d'autres stress, tels que les fortes températures ou encore le manque de nutriments, que je ne décrirai pas ici.

b) Stress biotiques

Les plantes sont confrontées à de nombreux types de stress biotiques causés par différents organismes vivants comme les champignons, les bactéries, les nématodes, les insectes et les virus. Ces agents de stress biotique provoquent divers types de maladies, d'infections et de dommages aux plantes cultivées et affectent finalement la productivité des cultures.

Chez le riz la **pyriculariose**, causée par l'agent pathogène *Magnaporthe oryzae* appartenant à la division des Ascomycètes, est une des maladies du riz causant les plus grandes pertes de rendement. Ce champignon hémibiotrophe s'attaque aux parties aériennes de la plante et cause des symptômes foliaires en forme de losanges, grisâtre au centre et brun sur les bords. Ces lésions affectent la capacité photosynthétique de la plante et leur évolution entraîne le dessèchement et la mort des feuilles infectées (Liu et al. 2014).

Les **nématodes** se nourrissent des plantes et provoquent principalement des maladies transmises par le sol qui entraînent une carence en nutriments, un retard de croissance et un flétrissement (Lambert and Bekal 2002; Bernard et al. 2017; Osman et al. 2020). *Meloidogyne incognita* est un **nématode à galle** de la famille des Heteroderidae qui parasite les racines de riz et provoque de fortes pertes de rendement notamment au Brésil, au Bénin et au Vietnam. Au niveau du site d'infection, ce nématode induit la formation de cellules géantes au niveau desquelles il se nourrit et se reproduit (Bellafiore and Briggs 2010).

Concernant les **acariens** et les **insectes**, ces derniers altèrent les plantes en s'en nourrissant (en les perçant et en les suçant) ou en y pondant des œufs. Les insectes peuvent également être porteurs d'autres virus et bactéries. Par exemple la **cicadelle verte orientale du riz**, nommée *Nephotettix* spp., transmet la **maladie virale du tungro**. Le virus conduit à la décoloration des extrémités des feuilles, un tallage réduit, des plantes à la croissance ralentie et à la vigueur restreinte, et dans le pire des cas le flétrissement des plantes (Azzam and Chancellor 2002).

Par ailleurs, les **virus** et les **bactéries** sont également capables de dommages locaux et systémiques entraînant dans certains cas une chlorose et un rabougrissement pour l'un, et des nécroses foliaires pour l'autre (Niño-Liu et al. 2006; Pallas and García 2011). Le RYMV ("Rice Yellow Mottle Virus") est un virus à ARN appartenant au genre des sobémovirus qui cause la maladie de la **panachure jaune du riz** (Regenmortel et al. 2000). Le virus se transmet par voie mécanique et par le coléoptère *Sessilia pussila* (Hébrard et al. 1999). Les feuilles infectées présentent au départ des panachures jaunes qui à des stades plus avancés prennent une couleur orangée et entraînent un

dessèchement des tissus photosynthétique et la mort de la feuille. L'infection des parties végétatives entraîne un retard de croissance et affecte la formation des panicules (Thiemele et al. 2008). Parmi les maladies bactériennes du riz, l'espèce *Xanthomonas oryzae* ssp. fait partie des menaces majeures causant de grandes pertes de rendement. Au sein de cette espèce se retrouvent deux pathovars, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) et *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), causant respectivement la **bactériose à strie foliaire (BLS)** et la **bactériose vasculaire (BLB)** du riz. Cette dernière fait partie du top 10 des maladies bactériennes affectant les plantes (Mansfield et al. 2012), et sera détaillée dans le paragraphe VI. 1. b).

IV. Le genre *Xanthomonas*

1. Généralités

La première observation d'une bactérie du genre *Xanthomonas* fut rapportée en 1881 par Wakker, dans le cas de la maladie jaune des jacinthes ("yellows disease of hyacinths") (Starr 1981). De façon générale, le genre *Xanthomonas* comprend des bactéries à gram négatif, à la pigmentation jaune, qui interagissent avec les plantes. On dénombre environ 400 espèces de plantes pouvant être infectées par les bactéries du genre *Xanthomonas*, incluant une grande diversité de monocotylédones et de dicotylédones, dont de nombreuses cultures d'intérêt agronomique telles que le riz, le blé, la banane, la tomate, les agrumes, le coton ou encore le manioc (Jacques et al. 2016). Le genre *Xanthomonas* comprend environ 35 espèces et 80 pathovars. Au sein d'une espèce, les pathovars se distinguent par une gamme d'hôtes caractéristiques et/ou une spécificité de colonisation tissulaire (vasculaire ou parenchymatique). Par exemple, l'espèce *X. oryzae* infectant le riz comprend les deux pathovars *X. oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) et *X. oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*), qui envahissent le système vasculaire et les espaces intercellulaires du parenchyme respectivement (Niño-Liu et al. 2006).

2. Génomique et *Xanthomonas*

Les deux premiers génomes de *Xanthomonas* spp. ont été séquencés au début des années 2000 (da Silva et al. 2002). A l'heure actuelle, plus de 1 400 génomes de *Xanthomonas*, représentant toutes les espèces de *Xanthomonas* nommées, sont disponibles publiquement dans la base de données du "National Center for Biotechnology Information" (NCBI). Cette richesse de données génomiques a révolutionné notre compréhension de la taxonomie bactérienne et de l'évolution des pathogènes, ainsi que des facteurs contribuant à la virulence et à l'adaptation de l'hôte. La diversité des *Xanthomonas* peut être catégorisée à plusieurs niveaux, comprenant la **diversité génétique** au sein des populations et des espèces, et la **diversité fonctionnelle ou environnementale**, qui décrit leurs rôles dans les microbiomes des plantes.

- Diversité des populations et des espèces

Afin d'évaluer la diversité des populations, différentes méthodes ont été mises en place, allant de l'analyse de profil de RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism"), au séquençage du génome entier ("Whole Genome Sequencing", WGS), en passant par des approches de type MLVA ("Multiple Loci VNTR Analysis") et MLST ("MultiLocus Sequencing Typing"). L'analyse RFLP est une technique qui exploite les variations dans les séquences d'ADN homologues affectant les sites de reconnaissance des enzymes de restriction. L'analyse VNTR ("Variable Number Tandem Repeat") à loci multiples, ou MLVA, quant à elle, est une méthode d'analyse génétique qui exploite comme source de polymorphisme la variation du nombre de motifs de répétitions en tandem (micro ou minisatellites). Enfin, le typage par séquençage MLST, est une technique de référence qui permet de discriminer différentes souches en se basant sur le séquençage de "gènes de ménage" codant pour des protéines essentielles de la bactérie. Ces séquences ont la particularité de présenter un polymorphisme stable dans le temps et suffisant pour distinguer des souches entre elles. Ces diverses techniques permettent de garder un œil sur l'évolution des génomes à l'échelle d'une espèce, d'un pathovar, ou même encore d'une population entière.

Le contournement de gènes de résistance par une population bactérienne est un cas d'étude intéressant qui met en avant l'intérêt d'utiliser ces différents outils d'analyses pour traquer l'évolution des populations, et anticiper de futur contournement (Quibod et al. 2020). D'autre part, certains composants du génome tels que les séquences d'insertions, aussi appelées IS ("insertion sequences"), sont acteurs de la diversification des populations et des espèces. Les IS joueraient un rôle important dans l'instabilité du génome et la perte de fonction des gènes, comme le montre l'inactivité du gène *gumM*, qui intervient dans la production de xanthane, provoquée par une séquence d'insertion et qui a aboli la production de ce polysaccharide extracellulaire chez *X. oryzae* (Rajeshwari and Sonti 2000). En 2005, un total de 386 IS a été trouvé dans un seul génome de *X. oryzae*, indiquant une grande plasticité du génome de chaque souche (Ochiai et al. 2005). La comparaison du génome de la souche de *Xoo* PXO99^A avec ceux des souches de *Xoo* MAFF311018 (MAFF) et KACC10331 (KACC), ces deux dernières étant très similaires l'une à l'autre, a fourni des preuves directes que le génome de *Xoo* est très plastique et évolue rapidement (Salzberg et al. 2008). Le génome de PXO99^A code 19 effecteurs TAL et présente au moins 10 réarrangements chromosomiques majeurs par rapport aux souches KACC et MAFF, résultant en 29 blocs synténiques distincts. La plupart de ces réarrangements semblent être médiés par un ensemble d'éléments transposables.

La diversité intraspécifique et la spécialisation de l'hôte sont apparentes chez *X. citri* pv. *citri* (*Xci*), qui présente trois pathotypes : A, A* et A^w. Ces trois pathotypes ont une gamme d'hôtes variable : le

pathotype A a une large gamme d'hôtes, tandis que le pathotype A* n'infecte que *Citrus aurantifolia*, *C. latifolia* et *C. macrophylla*, et le pathotype A^w affecte *C. aurantifolia* et *C. macrophylla* (Escalon et al. 2013). Gordon et ses collègues (2015) ont réalisé une analyse de génomique comparative sur 43 souches de *Xci* qui n'a révélé qu'une variation extrêmement faible du contenu génétique; la plupart du contenu génétique variant était lié aux îlots génétiques et aux régions de recombinaison. Ces résultats indiquent le rôle joué par le transfert horizontal de gènes et la recombinaison pour l'évolution du contenu génétique de ces pathotypes en termes de gain et de perte de contenu génétique et de mutations (Gordon et al. 2015). Le gène *avrGf1* et son homologue *avrGf2* agissent comme un facteur de restriction de la gamme d'hôtes dans le pathotype A^w mais la délétion du gène *avrGf1* ne donne pas une gamme d'hôtes de type A à ce pathotype. Ceci indique que la présence ou l'absence d'autres facteurs est nécessaire pour expliquer la gamme d'hôtes de ces pathotypes.

- Génomique environnementale

L'analyse de génomique comparative des souches de *Xanthomonas* pathogènes et non pathogènes, qui coexistent dans la même plante hôte, peut donner plus d'informations sur les adaptations génomiques d'une souche non pathogène à un environnement particulier. Par exemple, une analyse du pangénome de souches de *Xanthomonas*, isolées de grains de riz sains, a permis d'identifier un certain nombre de gènes uniques qui sont partagés par *X. maliensis*, précédemment signalé comme ayant un mode de vie non pathogène, et les *Xanthomonas* pathogènes du riz (*X. oryzae*, (Triplett et al. 2015). Même si *X. maliensis* n'a pas de système de sécrétion de type 3 (SST3) et ses effecteurs associés qui sont retrouvés chez les *Xanthomonas* pathogènes, il porte des gènes codant d'autres systèmes de sécrétion, tels que le SST1, SST4 et SST6, indiquant certaines caractéristiques similaires aux *Xanthomonas* pathogènes. Par conséquent, *X. maliensis* est phylogénétiquement plus proche des isolats pathogènes que des isolats non pathogènes, tel que certaines souches de *X. arboricola* ou *X. cannabis* ne portant que 4 gènes régulateurs associés aux SST3, et les orthologues de 6 ET3, contre 24 orthologues trouvés dans les souches pathogènes (Jacobs et al. 2015; Garita-Cambronero et al. 2017). Ces observations suggèrent que *X. maliensis* est un intermédiaire possible dans l'évolution des souches pathogènes à partir des souches non pathogènes par l'acquisition de gènes qui sont habituellement présents dans les isolats pathogènes (Triplett et al. 2015).

3. Les déterminants du pouvoir pathogène

a) Les structures de surface des bactéries

Parmi les déterminants du pouvoir pathogène se retrouvent en première ligne, les structures de surface des bactéries telles que les exopolysaccharides (EPS), les lipopolysaccharides (LPS) et les adhésines (Figure 11).

Un des **exopolysaccharides caractéristiques** des *Xanthomonas* est le **xanthane**, qui donne cet aspect mucoïde aux colonies bactériennes. La production de xanthane est dirigée par plusieurs loci génétiques, y compris le groupe de gènes *gum*, qui consiste en 12 gènes (*gumB* à *gumM*) et est hautement conservé parmi les bactéries du genre *Xanthomonas* (Katzen et al. 1998; Vojnov et al. 1998). En raison de sa consistance hautement hydratée et anionique, le xanthane protège les bactéries des stress environnementaux (e.g. la déshydratation, les composés toxiques). Il a été démontré que les gènes *gum* de plusieurs *Xanthomonas* contribuent à la survie épiphytique et/ou à la croissance bactérienne *in planta* et à la formation de symptômes (Chou et al. 1997; Katzen et al. 1998; Dharmapuri and Sonti 1999; Kemp et al. 2004; Dunger et al. 2007; Rigano et al. 2007; Kim et al. 2009). Il est aussi intéressant de noter que la contribution du xanthane à la virulence peut dépendre de la plante hôte et des conditions environnementales (Dunger et al. 2007; Rigano et al. 2007). Des preuves expérimentales démontrent que le xanthane supprime également les réponses de défense basale des plantes telles que le dépôt de callose dans la paroi cellulaire de la plante (Yun et al. 2006; Aslam et al. 2008) et qu'il serait impliqué dans la formation de biofilms (Dow et al. 2003; Torres et al. 2007; Rigano et al. 2007). Ce biofilm servirait de protection contre les antibiotiques et les réponses de défense de l'hôte et pourrait contribuer à la survie épiphytique des bactéries avant que ces dernières colonisent l'espace intercellulaire des plantes (Stoodley et al. 2002).

Un autre facteur de virulence associé à la survie de *Xanthomonas* et d'autres bactéries phytopathogènes sont les **lipopolysaccharides (LPS)**, qui sont des composants majeurs de la membrane externe bactérienne et protègent la cellule des environnements hostiles. Chez *X. campestris* pv. *campestris* (*Xcc*), la synthèse du LPS est dirigée par le groupe de gènes *wxc*, qui comprend 15 gènes (Vorhölter et al. 2001). Une analyse comparative des séquences a révélé que les groupes de gènes LPS de différentes espèces de *Xanthomonas* varient en nombre et en identité de gènes et ont probablement été soumis à une forte sélection de diversification (génération de multiples allèles différents dans différentes espèces, pathovars et aussi différentes souches) (Lu et al. 2008). Des variations dans la composition des LPS pourraient permettre aux bactéries d'échapper à la reconnaissance par le système immunitaire de la plante et affecter probablement aussi la résistance bactérienne à l'adsorption et/ou à l'infection par les phages (Ojanen et al. 1993; Hung et al. 2002).

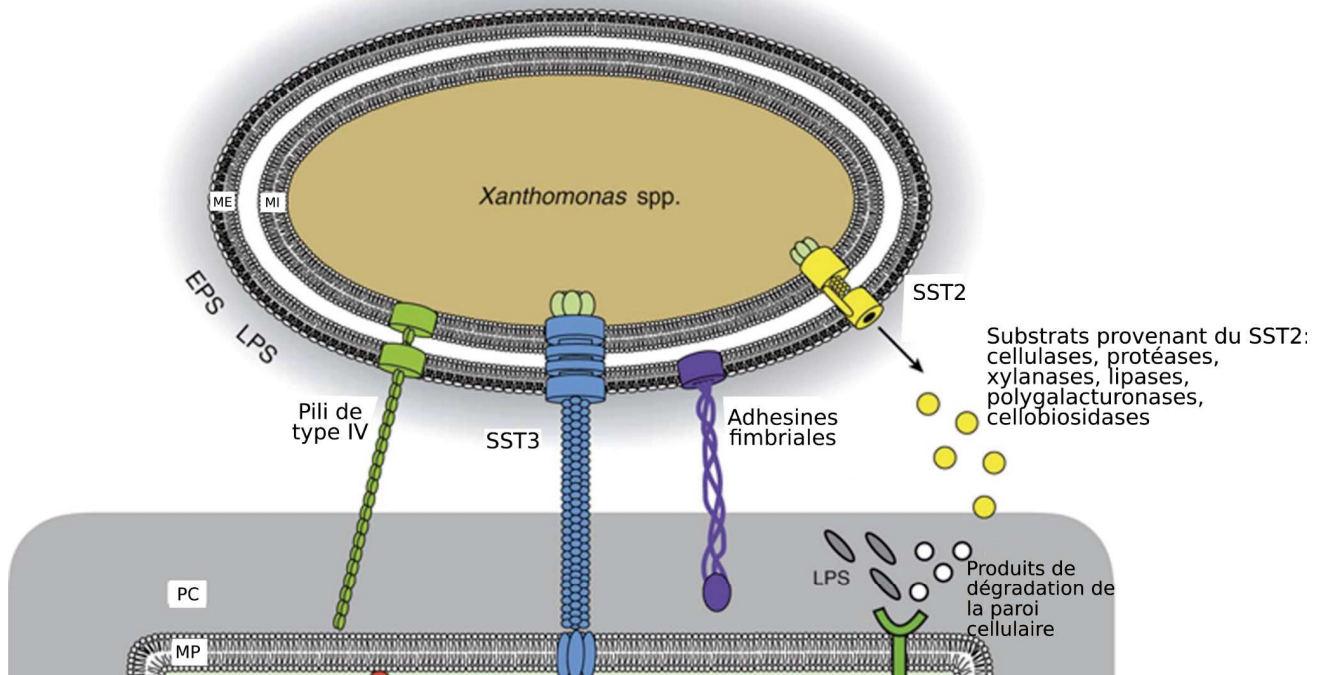


Figure 11. Les structures de surface des bactéries participant à leur pouvoir pathogène.

Les *Xanthomonas* spp. dépendent des SST2 et SST3, des adhésines, des EPS et des lipopolysaccharides (LPS) pour interagir avec leurs plantes hôtes. Les LPS peuvent être libérés de la surface bactérienne et déclencher des réponses de défense de la plante. Les LPS et autres PAMPs sont détectés par des récepteurs spécifiques des plantes qui activent les réponses de défense des plantes (PTI). L'immunité déclenchée par les PAMPs peut également être déclenchée par les produits de dégradation de la paroi cellulaire des plantes qui résultent de l'action des enzymes de dégradation sécrétées par le SST2. Le SST3, qui transloque les protéines effectrices dans la cellule hôte, est essentiel pour la pathogénicité bactérienne. MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; PC, paroi cellulaire ; MP, membrane plasmique. D'après (Buttner and Bonas 2009).

L'adhésion des bactéries aux surfaces biotiques est la clé de l'invasion du tissu hôte. La fixation des bactéries dépend **d'adhésines** spécifiques ancrées dans la membrane externe des bactéries. L'analyse comparative des séquences génomiques a révélé que les bactéries phytopathogènes possèdent un certain nombre d'adhésines qui servent probablement de médiateur à l'attachement bactérien à de multiples récepteurs de la cellule hôte et pourraient contribuer à différentes étapes du processus d'infection (Das et al. 2008). A ce jour, il a été démontré que les adhésines de *Xoo*, *X. axonopodis* pv. *citri* (*Xac*) et *X. fuscans* ssp. *fuscans* (*Xff*) sont impliquées dans la virulence bactérienne et la fixation aux feuilles et/ou aux graines (Ray et al. 2002; Das et al. 2008; Gottig et al. 2009; Darsonval et al. 2009). Les analyses mutationnelles des gènes des adhésines de *Xff* ont révélé que ces dernières contribuent individuellement et de manière complémentaire aux différentes étapes du processus d'infection (Darsonval et al. 2009). En accord avec cela, il a été découvert que XadA et XadB, les adhésines de *Xoo*, sont nécessaires pour l'attachement bactérien à la surface de la feuille, tandis que l'homologue de l'adhésine autotransporteur YapH, de *Yersinia* spp., contribue à la colonisation bactérienne des vaisseaux du xylème (Das et al. 2008).

b) Les systèmes de sécrétion

i. Le système de sécrétion de type 3

Chez la plupart des bactéries à gram négatif pathogènes des plantes et des animaux le système de sécrétion de type 3 (SST3) est un acteur majeur de la pathogénicité. Il est décrit comme une "seringue moléculaire" permettant l'injection d'effecteurs de type 3 (ET3) dans le cytoplasme de la cellule hôte (Figure 12, (Deng et al. 2017)). Chez les bactéries phytopathogènes le SST3 est constitué de deux ensembles de protéines codées par les gènes *hrp* ("Hypersensitive response and pathogenicity") et *hrc* ("HR and conserved"). Les protéines Hrc dirigent la sécrétion des substrats SST3 à travers l'enveloppe bactérienne, tandis qu'un sous-ensemble de protéines Hrp sont elles-mêmes sécrétées par le SST3 et dirigent la translocation des effecteurs à travers les barrières des cellules hôtes (Alfano and Collmer 2004). Le groupe de gènes chromosomiques *hrp*, contient plus de 20 gènes organisés en plusieurs unités transcriptionnelles (Büttner and Bonas 2002). Ces gènes ont été découverts pour la première fois chez *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* et se sont révélés essentiels pour la pathogénicité bactérienne et l'induction de la HR dans les plantes hôtes et non hôtes, respectivement (Lindgren et al. 1986). Identifiés dans la plupart des bactéries à gram-négatif, les gènes *hrp* sont absents chez *Agrobacterium tumefaciens* et *Xylella fastidiosa*, cette dernière étant étroitement liée à *Xanthomonas* spp. (Bonas 1994; Simpson et al. 2000; Goodner et al. 2001; Wood et al. 2001).

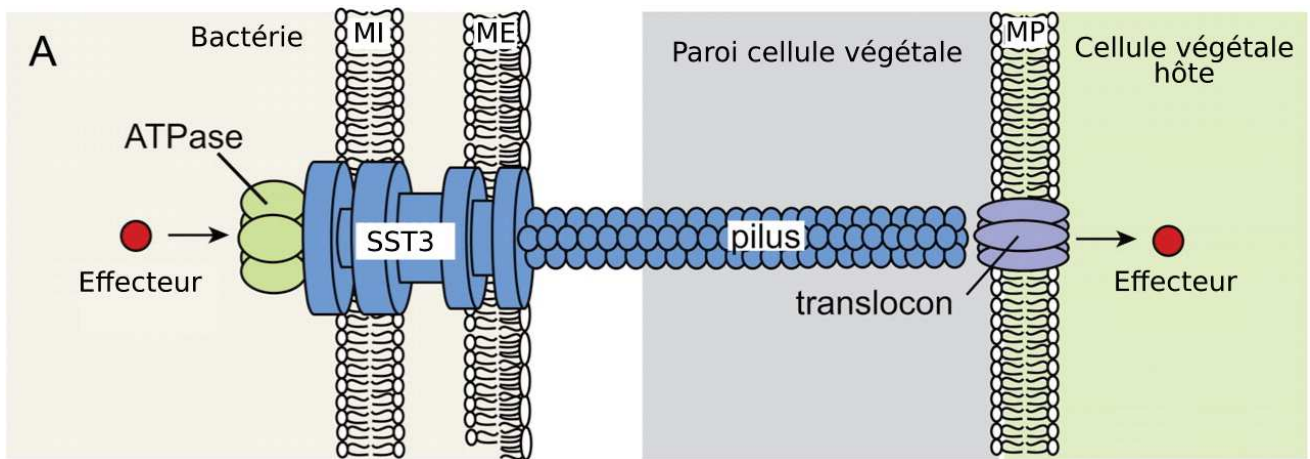


Figure 12. Représentation schématique d'un système de sécrétion de type III (SST3) présent chez les bactéries phytopathogènes (Buttner and He 2009).

Représentation schématique du SST3 des bactéries phytopathogènes. L'appareil de sécrétion traverse les deux membranes bactériennes et est associé à une ATPase cytoplasmique. Le T3SS des bactéries pathogènes des plantes est connecté à un pilus extracellulaire qui traverse vraisemblablement la paroi cellulaire de la plante. Le système T3SS des bactéries pathogènes des animaux est associé à une courte aiguille extracellulaire, qui sert de canal de transport pour les protéines sécrétées. L'aiguille est reliée par le complexe de pointe au translocon, qui forme un canal protéique dans la membrane plasmique de l'hôte et permet le transport des protéines effectrices dans le cytosol de la cellule hôte. La preuve de la présence d'un complexe de pointe chez les bactéries phytopathogènes fait encore défaut. MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; MP, membrane plasmique.

ii. Les autres systèmes de sécrétion

Bien que le SST3 soit considéré comme le principal système de sécrétion responsable de la virulence, la contribution d'autres systèmes de sécrétion à la pathogénie ou à l'aptitude globale du pathogène, comprenant les systèmes de sécrétion de type 2 (SST2) et de type 6 (SST6), a été démontrée chez *X. euvesicatoria*, *X. citri* pv. *citri* et *X. oryzae* pv. *oryzae* (Baptista et al. 2010; Szczesny et al. 2010; Bayer-Santos et al. 2018, 2019). Ces deux systèmes ont été reportés pour être impliqués dans la sécrétion de plusieurs enzymes dégradant la paroi cellulaire (Figure 13).

Le cluster SST2_{xps} est conservé dans le genre *Xanthomonas* (Timilsina et al. 2020), et certaines bactéries en possèdent même plusieurs (e.g. *X. euvesicatoria*). Le SST2 permet la sécrétion vers la matrice extracellulaire de toxines et d'un grand nombre et d'une grande variété d'enzymes telles que des protéases, des lipases et des enzymes de dégradation de la paroi cellulaire. Dans tous les cas examinés, les mutations des gènes codant pour des SST2 diminuent la virulence chez un ou plusieurs hôtes, ce qui montre clairement l'importance du SST2 dans la pathogénèse végétale (Cianciotto and White 2017).

Le SST6 est une machinerie contractile composée de 13 protéines structurelles centrales. Ce système est apparenté, du point de vue évolutif, à la queue des bactériophages (Basler and Mekalanos 2012) et s'assemble en trois complexes majeurs : le complexe transmembranaire, la plaque de base et la queue. Les SST6 sont connus pour médier la compétition entre les bactéries rivales dans les environnements polymicrobiens en transloquant des toxines antibactériennes (e.g. des enzymes dégradant la paroi cellulaire, des nucléases et des enzymes ciblant les membranes) dans les cellules bactériennes concurrentes. Les SST6 peuvent délivrer des effecteurs protéiques autant dans des cellules procaryotes que dans des cellules eucaryotes (Cianfanelli et al. 2016; Hachani et al. 2016). Dans ce même contexte de compétition entre bactéries, les SST6 sécrètent aussi des effecteurs qui facilitent l'acquisition de nutriments (Wang et al. 2015c; Si et al. 2017b, a). Par ailleurs, un grand nombre de bactéries déploient leur système de sécrétion de type 4 (SST4) pour transférer de l'ADN, des protéines ou d'autres macromolécules vers d'autres bactéries ou cellules eucaryotes (Figure 13, (Waksman 2019; Li et al. 2019). Les SST4 sont composés principalement de deux sous-familles, les systèmes de conjugaison, pour échanger de l'ADN, et de translocation d'effecteurs (Cascales and Christie 2003). Ces deux catégories de systèmes nécessitent généralement un contact direct de cellule à cellule; cependant, quelques SST4 fonctionnent indépendamment des interactions avec les cellules cibles pour importer de l'ADN exogène ou exporter de l'ADN ou des protéines vers le milieu (Alvarez-Martinez and Christie 2009; Stingl et al. 2010; Koch et al. 2020).

Les systèmes de sécrétion de type 1 (SST1) ou transporteurs ABC (ATP-binding cassette) sont des complexes hétérotrimériques composés d'un exportateur ABC IM, d'une protéine de fusion

membranaire (MFP) et d'une protéine de membrane externe (OMP) formant un pore. Les T1SS permettent la sécrétion d'un large éventail de substrats (protéiques et non protéiques, tels que des toxines, des protéases et des lipases du cytoplasme vers l'espace extracellulaire en une seule étape, sans intermédiaire périsplasmique stable (Figure 13, (Gerlach and Hensel 2007).

Le système de sécrétion de type 5 (SST5) consiste en une seule chaîne polypeptidique avec un domaine translocateur à barillet β dans la membrane externe, et une région extracellulaire passagère ou effectrice (Figure 13, (Drobnak et al. 2015). Les SST5 n'ont pas de source d'énergie évidente pour le transport, car il n'y a pas d'énergie chimique telle que l'ATP disponible dans le périplasma, et aucun gradient stable de protons ou d'autres ions n'existe à travers la membrane externe. Cela a conduit à l'appellation "autotransporteur" qui suggère un système de sécrétion complètement autosuffisant (Klauser et al. 1993). Les substrats transportés par les autotransporteurs ont des fonctions très diverses, allant des adhésines (fixation aux surfaces, formation de biofilm) ou des enzymes aux protéines toxiques.

4. Les effecteurs TAL et non-TAL

Parmi les ET3 de *Xanthomonas*, certains sont capable de moduler la physiologie de l'hôte pour obtenir des nutriments, faciliter l'infection et/ou échapper aux réponses immunitaires de l'hôte (Kay and Bonas 2009). On les classe en deux groupes principaux en fonction de leur structure moléculaire, de leur fonction et de leurs interacteurs. Le premier groupe forme un ensemble hétérogène de protéines dites "***Xanthomonas* outer proteins**" (Xops), ce sont des effecteurs dotés d'un large éventail d'activités enzymatiques, dont les cibles et les effets physiologiques associés se situent principalement dans le cytoplasme de l'hôte et dont le mécanisme d'action repose sur des interactions protéine-protéine. Le second regroupe uniquement les protéines de la famille des "**Transcription Activator Like Effectors**" (TALE), qui sont des protéines modulaires partageant une architecture très spécifique combinée à des motifs eucaryotes qui leur permettent d'agir comme de véritables facteurs de transcription dans le noyau de l'hôte.

La plupart des Xops sont impliqués dans l'altération des voies de défenses déclenchée par les PAMP-DAMP (PTI/DTI) ou par les effecteurs (ETI). Comme exemple de Xops qui suppriment les défenses de la plante, il y a XopP de *Xoo*, qui a récemment été identifié pour bloquer l'immunité déclenchée par les peptidoglycanes et la chitine, chez le riz, en inhibant l'ubiquitine ligase U-box *OsPUB44*, un régulateur positif de l'immunité basale (Ishikawa et al. 2014). Un autre exemple apparaît chez la souche *Xoo* PXO99^A qui possède 18 effecteurs bactériens non-TAL. Parmi eux, XopZ agit comme un facteur de virulence et supprime les mécanismes de défense basale des plantes. XopZ permet de réduire le dépôt de callose, et serait induit de façon HrpG-dépendante (Song and Yang 2010). XopD est un autre exemple de Xop utilisant une voie de type ubiquitine et

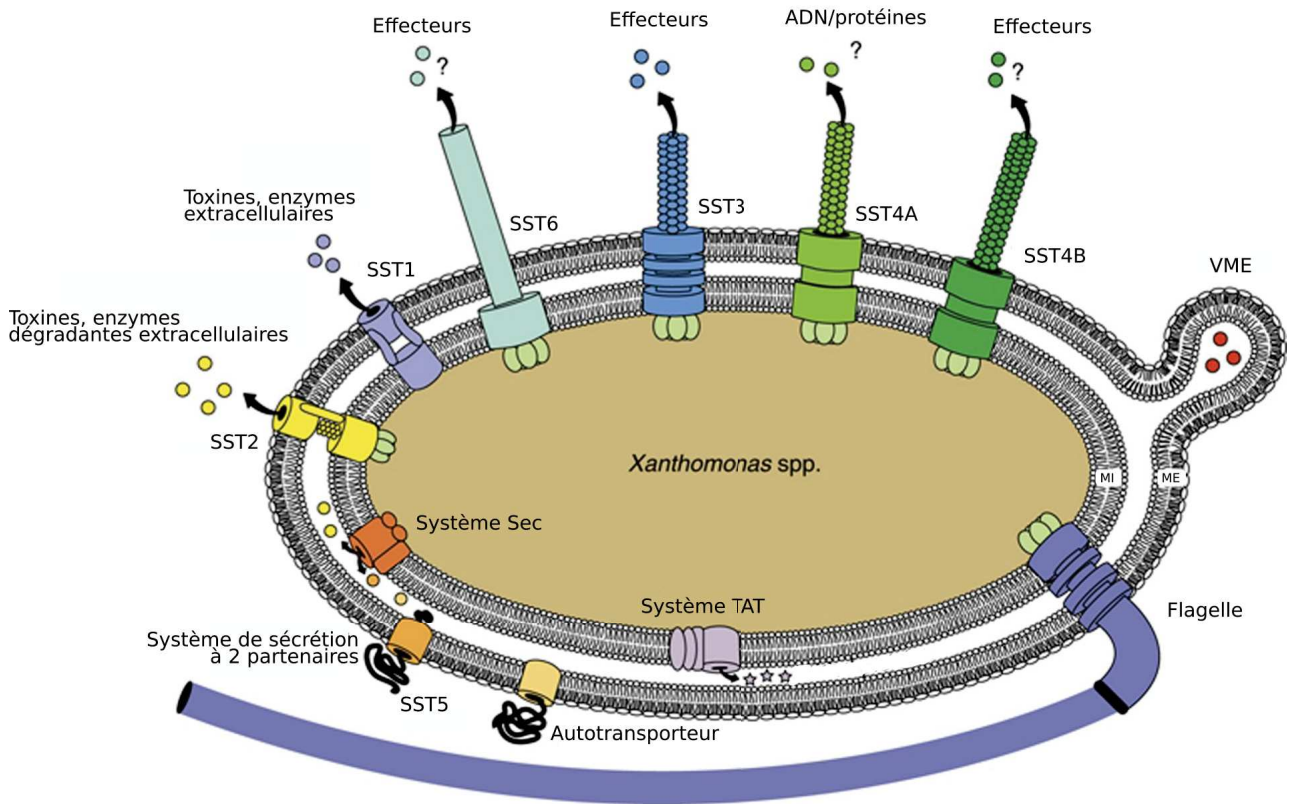


Figure 13. Représentation schématique des systèmes de sécrétions présents chez *Xanthomonas* spp. (Buttner and Bonas 2009).

Six types de systèmes de sécrétions sont représentés ici. Les systèmes SST2 et SST5 dépendent du système Sec ou TAT pour le transport des protéines à travers la membrane interne. Les systèmes SST3, SST4 et SST6 sont associés à des structures “pilus” extracellulaires et transloquent vraisemblablement les protéines dans la cellule hôte. Jusqu'à présent, la translocation des protéines a été prouvée expérimentalement pour les SST3. Dans quelques cas seulement, la sécrétion des protéines dépend de la formation de vésicules de la membrane externe (VME). MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; TAT, twin-arginine translocation.



Figure 14. Structure type d'un effecteur TAL de *Xanthomonas*.

Les TALE possèdent un signal de translocation, qui permet le transport du TALE à l'intérieur de la cellule hôte via le SST3. Une région centrale où des répétitions en tandem se succèdent, conférant au TALE cette spécificité de fixation au promoteur du gène cible. Les TALE possèdent aussi plusieurs motifs NLS (“Nuclear Localisation Signal”), et un domaine d'activation (AD) de la transcription, en C-terminal. Les TALE sont très conservés, mais le nombre de répétitions, ainsi que l'ordre de ces dernières les différencient et définissent leur activité. D'après (Boch & Bonas 2010).

agissant comme une protéase SUMO pour déstabiliser sa protéine cible et ainsi améliorer la virulence de *X. euvesicatoria* pendant l'infection des plants de tomate (Üstün and Börnke 2014). XopY de la souche *Xoo* T7174 interagit avec deux kinases cytoplasmiques semblables à des récepteurs RLCK, OsRLCK55 et OsRLCK185, et supprime la phosphorylation d'OsRLCK185 pour interférer avec la signalisation d'une protéine MAPK (Yamaguchi et al. 2013). Il a également été démontré que XopN, un effecteur important de la souche de *Xoo* KXO85, cible *OsVOZ2* et *OsXNP*, codant un facteur de transcription de type "Vascular Plant One-Zinc Finger 2" et une thiamine synthase putative, respectivement. XopN, induit de façon HrpX-dépendante, permettrait l'infection et l'accroissement de la virulence chez KXO85 via l'interaction avec *OsVOZ2* dans le cytoplasme et le noyau (Cheong et al. 2013). A contrario, les TALE agissent comme des facteurs de transcription qui remodelent le métabolisme cellulaire de l'hôte par l'activation de gènes de sensibilité (S) afin de créer de meilleures niches pour les bactéries (Timilsina et al. 2020) **(Plus de détails sur les TALE seront donnés dans la section suivante V.)**.

V. L'interaction TALE-hôte

Le gène *avrBs3* a été le premier membre isolé de la famille des TALE. Il a été identifié génétiquement à l'Université de Floride, à Gainesville, par Ulla Bonas et ses collaborateurs. C'est l'inoculation des souches 71-21 et 82-8 de *X. euvesicatoria* conduisant à une HR chez le cultivar de poivron résistant ECW-30R, portant le gène *R Bs3*, qui suggéra la présence d'un gène d'avirulence (*avr*) correspondant, appelé *avrBs3*, dans les deux souches (Bonas et al. 1989). Par la suite, la complémentation de la souche virulente *Xcv* 85-10 avec *avrBs3* entraîna l'induction d'une HR dans les feuilles des plantes de poivron ECW-30R, ce qui permit de confirmer son rôle d'effecteur d'avirulence (Bonas et al. 1989). Peu après la découverte d'*avrBs3*, trois homologues de la famille des TALE, *avrXa5*, *avrXa7* et *avrXa10*, ont été clonés à partir de la souche de *Xoo* PXO99^A en utilisant *avrBs3* comme sonde (Hopkins et al. 1992).

1. Structure des TALE

Après *AvrBs3* un grand nombre d'autres TALE ont été décrits chez de nombreuses espèces de *Xanthomonas* montrant que la structure de ces protéines est très conservée et se caractérise par (Figure 14) :

- un **signal de sécrétion de type III**, en N-terminal, permettant la translocation du TALE dans le cytoplasme de la cellule hôte (Szurek et al. 2002),
- un **domaine central** où des répétitions en tandem se succèdent (de 1,5 à plus de 30) (Bonas et al. 1989). Chaque répétition est constituée de 33 à 34 acides aminés, quasiment identiques, à l'exception de ceux en position 12 et 13 qui sont hypervariables et appelés

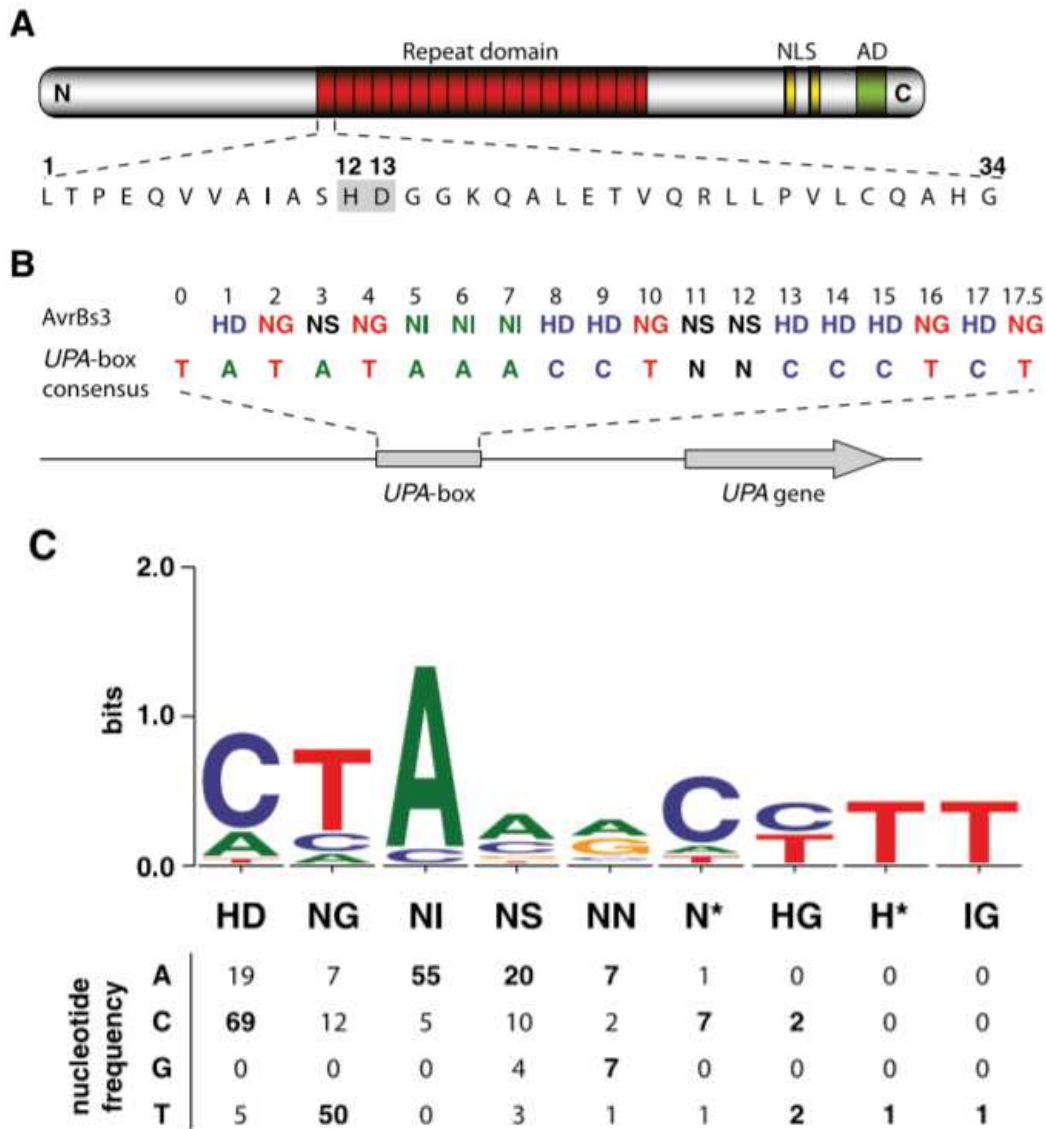


Figure 15. Modèle de la spécificité de l'interaction de l'ADN-cible et des TALE.

(A) Les effecteurs TAL contiennent au niveau de la région centrale des répétitions en tandem se composant de 33/34 acides aminés quasi-identiques, à l'exception de deux résidus hypervariables : les RVD ("Repeat Variable Diresidue"). Les acides aminés hypervariables 12 et 13 sont ombrés en gris. (B) Les acides aminés hypervariables aux positions 12 et 13 des 17,5 répétitions du TALE AvrBs3 de *X. euvesicatoria* sont alignés sur le consensus de la « UPA box ». (C) Les répétitions des effecteurs TAL et des séquences cibles prédites dans les promoteurs de gènes induits ont été alignées manuellement. Les nucléotides dans le brin d'ADN supérieur qui correspondent aux acides aminés hypervariables dans chaque répétition ont été comptés sur la base des combinaisons suivantes de huit TALE et gènes cibles identifiés expérimentalement : AvrBs3/Bs3, UPA10, UPA12, UPA14, UPA19, UPA20, UPA21, UPA23, UPA25, AvrBs3rep16/Bs3-E, AvrBs3rep109/Bs3, AvrHahl/Bs3, AvrXa27/Xa27, PthXol/Xa13, PthXo6/OsTFXI et PthXo7/OsTFIIAgl. Un astérisque indique que l'acide aminé 13 est absent dans ce type de répétition. Les fréquences nucléotidiques les plus élevées sont en gras. Les fréquences nucléotidiques sont affichées dans un logo (<http://weblogo.threeplusone.com>). D'après (Boch et al. 2009).

Culture	Nombre de gènes <i>SWEET</i>	Références
<i>Arabidopsis thaliana</i>	17	(Chen et al. 2010)
<i>Amborella trichopoda</i>	8	(Eom et al. 2015)
<i>Oryza sativa</i>	22	(Streubel et al. 2013)
<i>Sorghum bicolor</i>	23	(Mizuno et al. 2016)
<i>Glycine max</i>	53	(Eom et al. 2015)
<i>Solanum tuberosum</i>	35	(Manck-Gotzenberger et al. 2016)
<i>Solanum lycopersicum</i>	29	(Feng et al 2015)
<i>Malus domestica</i>	33	(Wei et al. 2014)
<i>Vitis vinifera</i>	17	(Chong et al. 2014)

Tableau 2. Nombre de gènes *SWEET* au sein de certaines espèces du règne des *Plantae*.

Tableau adapté de (Mondal et al. 2021).

RVD pour "Repeat Variable Di-residues" (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Le résidu en position 13 plus particulièrement est celui qui confère au TALE sa spécificité de fixation au promoteur du gène cible en déterminant l'interaction avec les nucléotides; le résidu 12 quant à lui permettrait de stabiliser cette interaction (Deng et al. 2012; Mak et al. 2012),

- **plusieurs motifs NLS**, pour "Nuclear Localisation Signal", généralement deux ou trois, en C-terminal, leur permettant de voyager jusqu'au noyau de la cellule hôte grâce à leur liaison avec des importines α (Szurek et al. 2002; Hui et al. 2019b),

- un **domaine d'activation (AD)** de la transcription en C-terminal permettant l'induction des gènes ciblés via le recrutement de la machinerie de transcription de l'hôte (Marois et al. 2002).

2. Mécanisme de reconnaissance TALE-ADN

Le nombre de répétitions au niveau de la région centrale ainsi que la composition et l'enchaînement en RVD définissent la spécificité de reconnaissance de la séquence cible chez l'hôte. Les TALE se fixent à une séquence d'ADN appelée EBE pour "Effector Binding Element", située dans le promoteur des gènes cibles. En se basant sur le fait que AvrBs3 se lie directement à la "UPA-box" (élément promoteur) du gène *Bs3* et que la taille de cette "box" correspond en tout point au nombre de répétitions du domaine central de ce TALE, la possibilité qu'une répétition se lie physiquement à une paire de base d'ADN fut alors envisagée. En 2009 deux équipes découvrent le secret de l'interaction TALE-ADN, l'une par une approche génétique, l'autre par une approche computationnelle (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Le modèle une fois expliqué paraît simple : une répétition reconnaît une paire de bases, de telle sorte qu'une série de répétitions en tandem reconnaît une séquence d'ADN comprenant autant de nucléotides qu'il y a de répétitions. Le nombre de répétitions qui varient d'un TALE à l'autre va donc définir la longueur de l'EBE ciblée (Figure 15). Il a d'abord été montré que les RVD définissaient la spécificité de liaison, par exemple NN reconnaît un cycle purique, NG ou HG reconnaissent une thymine, et HD reconnaît une cytosine. Parmi les RVD plus répandues on note HD, NG, HG, NN, NS, NI et N* (l'étoile signifiant une répétition de 33 aa du fait de l'absence du résidu 13). Selon Boch et ses collaborateurs (2009) six répétitions au minimum seraient nécessaires à l'induction d'une cible. En 2012, Mak et ses collaborateurs révèlent la structure en trois dimensions des TALE et comment ces derniers se fixent à l'ADN (Mak et al. 2012) (**voir aussi section V.6. pour les applications biotechnologiques des TALE**).

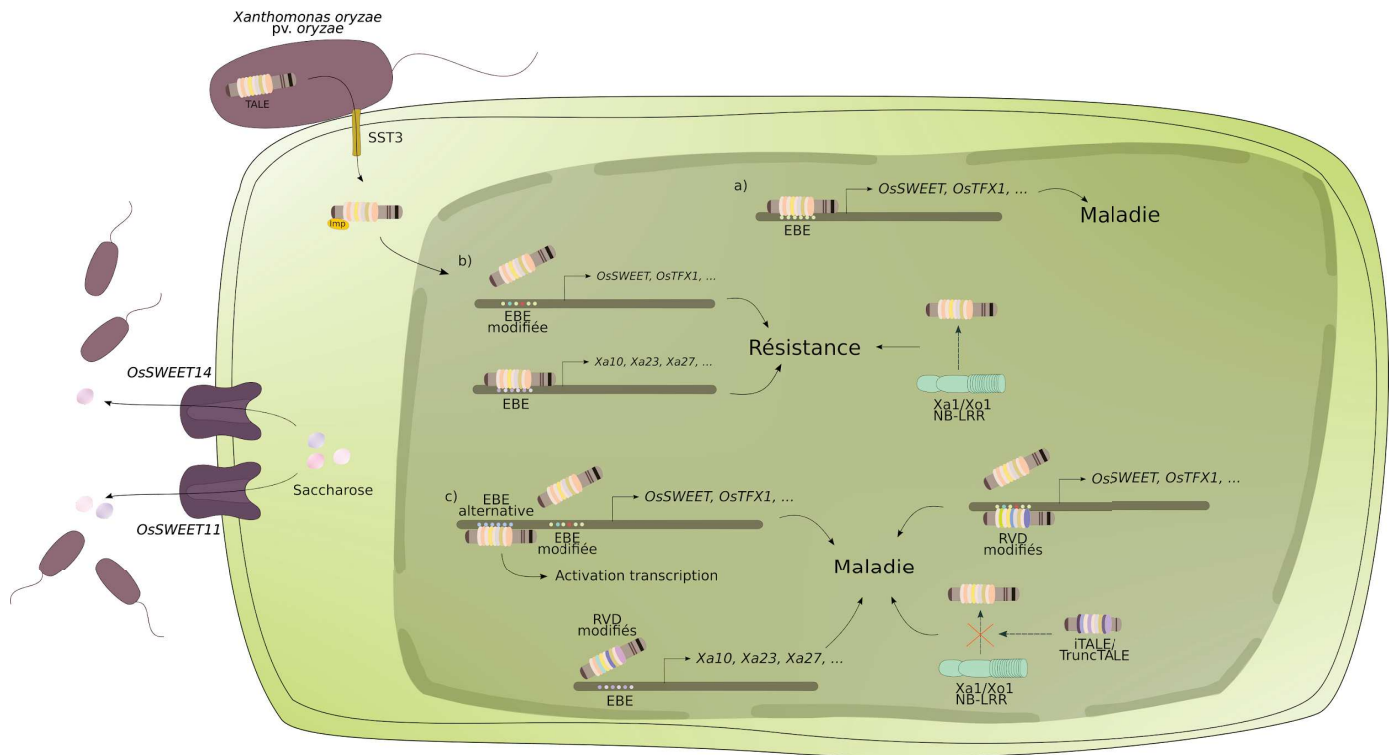


Figure 16. Effecteurs TAL de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* en interaction avec la cellule végétale.

a) Dans un contexte d'interaction compatible avec l'hôte, certains TALE de *Xoo* se fixent au niveau de séquences appelées EBE, pour "Effector Binding Element", situées dans le promoteur des gènes de sensibilité (S). Cette fixation, permet de recruter la machinerie cellulaire de l'hôte et d'induire la transcription de gène S, favorisant ainsi la croissance bactérienne et le développement de la maladie.

b) Au fil du temps, la plante a développé des mécanismes lui permettant de contrer l'agent pathogène, soit i) en modifiant l'EBE située dans les promoteurs des gènes S, empêchant ainsi les TALE de virulence de s'y fixer et d'induire la maladie; soit ii) en créant des EBE positionnées en amont gènes de résistance, que l'on nomme gènes exécuteurs (E), piégeant ainsi les TALE qui induisent par conséquent les gènes de résistance ciblés; ou bien iii) via la reconnaissance de ces effecteurs par le biais de protéines de type NB-LRR, comme Xa1 ou encore Xo1, menant au déclenchement des voies de défense de la plante.

c) Toutefois, dans cette course aux armements la bactérie a elle aussi trouvé d'autres moyens pour contourner les systèmes de défense de la plante. Là où la plante a modifié une EBE, la bactérie va faire en sorte de trouver une EBE alternative dans le promoteur du gène S pour pouvoir de nouveau l'induire. Une autre astuce utilisée par la bactérie est de modifier la séquence en RVD de ses TALE pour pouvoir se fixer sur l'EBE modifiée. Par ailleurs, cette technique de modification de séquence RVD, permet aussi à la bactérie de contourner la résistance médiée par l'induction de gènes E. Pour finir, afin de contrer les mécanismes de résistance NB-LRR dépendants, la bactérie a développé des TALE tronqués, ou interférant, nommés TruncTALE ou iTALE. Les mécanismes régissant ce contournement de la résistance ne sont pas encore bien compris, cependant il semblerait que la présence de ces TALE interférant, chez les certaines souches de *Xoo* Asiatiques, permettrait aux TALE "classiques" de ne pas déclenchaient la résistance, dans des variétés au fond génétique comportant *Xa1/Xo1*.

3. La sensibilité à travers les TALE

Les TALomes, répertoire de gènes *tal*, des différentes espèces de *Xanthomonas* varie en nombre et en composition en fonction des souches, mais aussi des pathovars. Les TALE jouent un rôle majeur dans l'interaction avec l'hôte en induisant l'expression de gènes dit de sensibilité (S) dont l'induction est essentielle à la multiplication du pathogène et/ou au développement de symptômes. Ces gènes S codent majoritairement des transporteurs (de sucres, de sulfate...), ou des facteurs de transcription (Figure 16.a). Parmi eux, les transporteurs de sucres particulièrement, sont les cibles communes de plusieurs TALE et ce dans divers pathosystèmes, représentant des cas d'évolution convergente. C'est pourquoi de nombreuses études ont été menées afin de les caractériser, dans des conditions d'interactions plante-pathogène.

a) Les transporteurs membranaires

Les gènes *SWEET* se retrouvent en très grand nombre chez les plantes, contrairement à une seule copie chez les mammifères. Ces gènes codent pour des transporteurs membranaires de sucres qui sont impliquées de manière significative dans différents événements biologiques des plantes (e.g. la sénescence, le développement du pollen, les interactions plante-pathogène). Le nombre de gènes de la famille des *SWEET* varie considérablement au sein du règne des *Plantae* (Tableau 2). Il peut aller de 8 gènes *SWEET* chez *Amborella trichopoda*, une angiosperme précoce, jusqu'à 53 chez *Glycine max* de la famille des *Fabaceae* au sein du phylum Angiospermes (Eom et al. 2015). Des études phylogénétiques détaillées ont permis de les classer en quatre clades, en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre (Eom et al. 2015; Chen et al. 2015; Li et al. 2018). C'est dans le cadre de l'interaction *Xoo*-riz que le rôle déterminant de certains gènes *SWEET* dans le développement de la maladie a été mis en évidence pour la première fois (Chen et al. 2010). Il existe 22 paralogues des gènes *SWEET* chez le riz et il a été démontré que tous les membres du clade III pouvaient agir comme des gènes de sensibilité (Streubel et al. 2013). Cependant seul trois d'entre eux ont été démontrés comme naturellement induits par différentes souches de *Xoo*. Il s'agit de *OsSWEET11* (alias *Xa13*) qui est induit transcriptionnellement par le TALE PthXo1 (Römer et al. 2010), le gène *OsSWEET13* (alias *Xa25*) induit par les TALE PthXo2A, PthXo2B et PthXo2C (Zhou et al. 2015; Zaka et al. 2018), et le gène *OsSWEET14* (alias *Xa41*) induit par les TALE AvrXa7, PthXo3, TalC ou TalF (alias Tal5) (Figure 17, (Streubel et al. 2013; Tran et al. 2018). Dans ce dernier cas, tous les TALE mentionnés, à l'exception de TalC, utilisent des EBE qui se chevauchent (Figure 18). Plusieurs hypothèses ont été émises quant à la fonction que pourrait jouer la surexpression des *SWEETs* dans le développement des bactérioses. L'export de sucres de la cellule vers l'apoplaste pourrait servir de source de carbone pour la bactérie. Une autre possibilité serait que ce déséquilibre en sucre favorise une accumulation d'eau, qui faciliterait

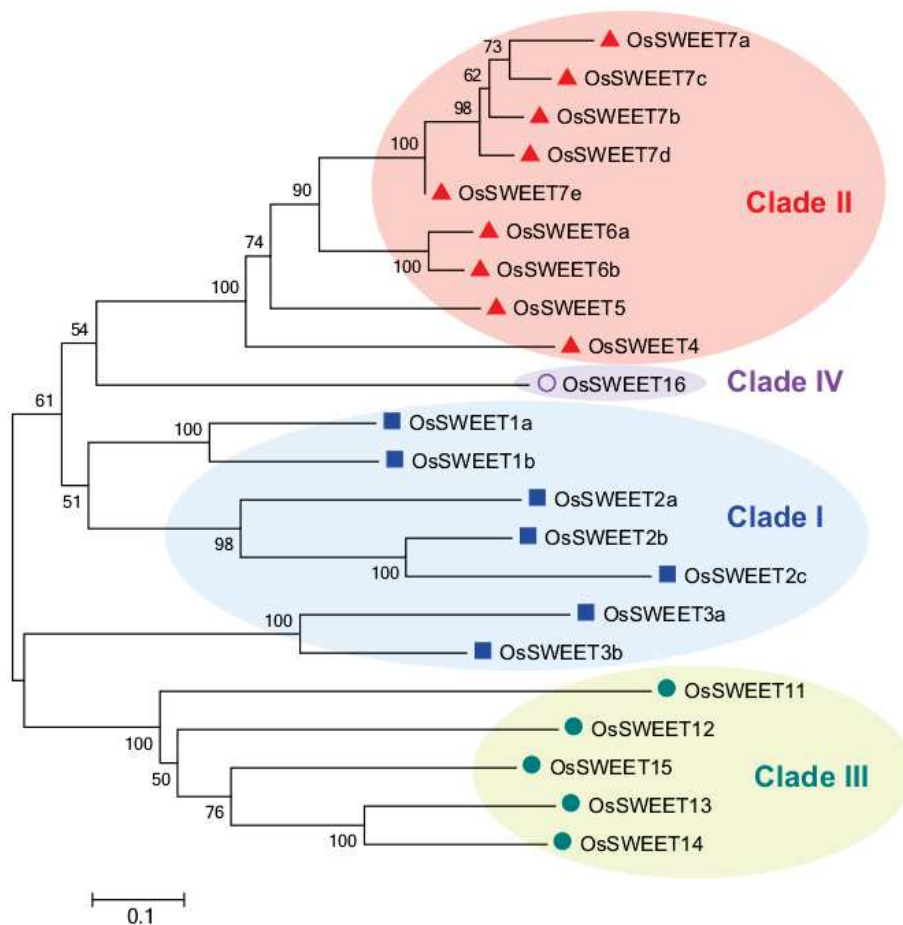


Figure 17. Gènes *OsSWEET* du riz répartis en cinq clades en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre.

Arbre phylogénétique des protéines *OsSWEET*. Les séquences en acide aminé ont été obtenues à partir d'UniProt et alignées à l'aide de MUSCLE avec les paramètres par défaut. Les alignements ont été analysés par la méthode "neighbor-joining" avec MEGA5.10. Les nombres aux intersections représentent la valeur de pourcentage de bootstrap basé sur 1000 répliqués. Les protéines du clade I sont précédées d'un carré bleu, du clade II d'un carré rouge, du clade III d'un rond vert et du clade IV d'un cercle violet. Tous les membres du Clade III agissent comme des gènes *S*, mais uniquement trois (*OsSWEET1*, *OsSWEET13* et *OsSWEET14*) sont induits naturellement par des TALE de *Xoo*. D'après (Streubel et al. 2013).

hypothétiquement le mouvement de l'agent pathogène et l'entrée d'une plus grande quantité de bactéries dans le tissu (Chen 2014; Schwartz et al. 2017; Aung et al. 2018; El Kasmi et al. 2018). De façon intéressante, la convergence évolutive pour l'induction des gènes *SWEET* est aussi retrouvée entre pathosystèmes puisque des gènes homologues sont aussi induits par des TALE de *Xanthomonas* chez d'autres hôtes (Figure 18). Chez le manioc, l'induction du gène *MeSWEET10a* par l'effecteur TAL20_{Xam668} entraîne l'exportation de glucose et de saccharose vers l'apoplaste, le développement de lésion aqueuse et une augmentation de la croissance bactérienne apoplastique (Cohn et al. 2014). Chez les agrumes, les TALEs PthA4, PthA^w et PthA* induisent le gène *CsSWEET1*, qui appartient au clade I, mais cette activation se semble pas favoriser le développement de la maladie, ce qui laisse penser que ce transporteur ne joue pas de rôle dans la pathogénie (Hu et al. 2014). Chez le coton, il a été démontré que le gène *GhSWEET10* est activé par le TALE de virulence majeur AvrB6 présent dans la souche *Xcm_{H1005}*, et que son activation est associée non seulement à l'exportation de saccharose et à la formation de lésions aqueuses, à la dispersion des bactéries à la surface de la feuille, mais ne permet pas d'accroître la quantité de bactéries dans le mésophylle (Yang et al. 1994; Cox et al. 2017).

A ce jour, chez *Xoc* seul un TALE de virulence majeur a été identifié. Il s'agit de Tal2g, identifié par mutagenèse de chacun des TALE de la souche de *Xoc* BLS256. Tal2g induit le gène de sensibilité *OsSULTR3;6*, codant un transporteur de sulfate, nécessaire au développement complet des symptômes de la bactériose à stries foliaires chez le riz. *Xoo* et *Xoc* se distinguant par leur spécificité tissulaire d'infection, il est intéressant de noter que *Xoc* induit un autre type de transporteur. La perturbation de l'interaction entre Tal2g et son EBE dans le promoteur de *OsSULTR3;6* entraîne des lésions aqueuses plus petites et une exsudation des bactéries à la surface des lésions moindre. Bien que les implications physiologiques exactes de la régulation de ce gène dans la pathogénie ne soient pas encore bien comprises, on suppose qu'il modifie le statut redox ou l'équilibre osmotique de la cellule pour interférer avec la signalisation de défense et favoriser le développement des symptômes (Cernadas et al. 2014).

b) Les facteurs de transcription

Une deuxième catégorie plus hétérogène de gènes *S* ciblés par les TALE sont les facteurs de transcription. La surexpression de ces gènes entraîne la dérégulation d'une ou plusieurs de leurs cibles secondaires, ce qui par conséquent permet le développement de la maladie. Certaines de ces cibles primaires et secondaires ont été caractérisées. Par exemple, chez le poivron, le gène *upa20*, qui code pour un facteur de transcription de la famille des bHLH ("basic helix-loop-helix"), est le premier facteur de transcription ciblé par un TALE à avoir été caractérisé. Dans un contexte de maladie, ce gène est induit par AvrBs3 de *X. euvesicatoria* et trans-active le gène *upa7*, codant pour

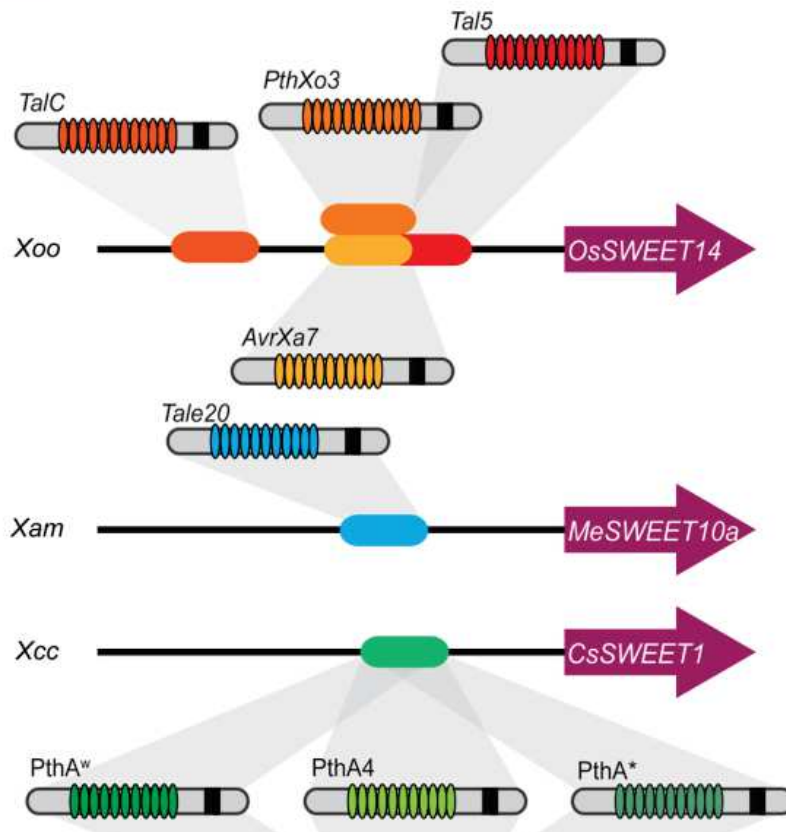


Figure 18. Convergence fonctionnelle des effecteurs bactériens TAL dans différents pathosystèmes et leurs cibles végétales.

Plusieurs cibles de sensibilité de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* appartiennent au clade III de la famille *SWEET*. Quatre TALE provenant de diverses souches de *Xoo* appartenant à des lignées différentes et d'origines géographiques distinctes ciblent *OsSWEET14*. TalC et Tal5 des deux souches Africaines de *Xoo* BAI3 (Burkina Faso) et MAI1 (Mali) se lient à deux sites de liaison (EBE) distincts. De plus, le promoteur d'*OsSWEET14* est ciblé par deux souches Philippines de *Xoo*, PXO86 et PXO61 par l'intermédiaire des TALE AvrXa7 et PthXo3. Les EBEs correspondants se chevauchent partiellement avec l'EBE de Tal5. Les réseaux de di-résidus variables répétés (RVD) et le nombre de répétitions (non représenté dans la figure) pour ces trois TALE sont significativement différents, mettant en évidence une convergence évolutive. La série PthA de *X. citri* ssp. *citri*. PthA4, PthA^w, et PthA^{*} induisent *CsSWEET1* appartenant au clade I de la famille *SWEET* chez les agrumes. Cependant, un rôle dans le développement de la maladie n'a pas été encore démontré. Une troisième espèce, *X. axonopodis* pv. *manihotis*, cible via TAL20 un membre de la famille *SWEET*, *MeSWEET10a*, qui appartient au Clade III, chez le manioc, et agit comme un gène de sensibilité. D'après (Hutin et al. 2015a).

une α -expansine. La surexpression d'*upa7* entraîne un élargissement des cellules du mésophylle des feuilles du piment ce qui permet le développement des symptômes foliaires et améliore potentiellement la survie épiphyte du pathogène (Wichmann and Bergelson 2004; Kay et al. 2007). Chez les agrumes, PthA4 et plusieurs de ces homologues ciblent le gène de sensibilité *CsLOB1*, un facteur de transcription appartenant à la famille des "Lateral Organ Boundaries" (LOB) (Hu et al. 2014). Dans des conditions non-pathogènes, les membres de la famille LOB régulent la croissance et le développement des plantes (Majer and Hochholdinger 2011). Dans des conditions pathogènes, la surexpression de *CsLOB1* entraîne une hypertrophie et une hyperplasie, ensemble de symptômes typiques de la maladie du chancre bactérien des agrumes (Hu et al. 2014).

Chez le riz, le gène *OsTFX1* code pour un facteur de transcription possédant un domaine bZIP ("basic leucine zipper"). Dans des conditions non-pathogènes cette catégorie de facteur de transcription peut être impliqué, entre autres, dans le développement des graines, la tolérance au sel, à la sécheresse et aux basses températures, mais aussi dans la fertilité du riz (Romagosa et al. 2001; Zou et al. 2008; Liu et al. 2012b). Les TALE PthXo6 et TalB, provenant respectivement de souches de *Xoo* Asiatiques et Africaines, se fixent au promoteur de ce facteur de transcription entraînant son induction et soutenant ainsi la virulence de l'agent pathogène (Sugio et al. 2007; Tran et al. 2018). L'expression constitutive de *OsTFX1* suffit à rendre la plante complètement sensible, même en l'absence de PthXo6, confirmant que *OsTFX1* agit comme un gène *S* (Sugio et al. 2007).

Par ailleurs, TalB régule aussi l'expression du gène *OsERF#123*, codant une protéine qui contient un domaine AP2, dont la surexpression confère une sensibilité à *Xoo* chez le riz (Tran et al. 2018). Ces facteurs de transcription de la famille AP2/ERF sont impliqués dans la réponse à plusieurs stress et certains sont capables de répondre à la signalisation de l'ABA et de l'ET, participant ainsi à l'activation de gènes de réponse aux stress (Xie et al. 2019). Il a été montré que les membres de la famille des facteurs de transcription AP2/ERF se fixent sur des séquences spécifiques appelées boîte GCC et jouent des rôles importants dans la défense contre les stress biotiques et abiotiques. Chez les plantes la surexpression de certains gènes AP2/ERF permet d'augmenter leur résistance aux bactéries, aux champignons et aux virus (Park et al. 2001; Gutterson and Reuber 2004; Zuo et al. 2007; Zhang et al. 2009; Jisha et al. 2015). Toutefois, lors de l'infection par des souches de *Xoo* Africaines, *OsERF#123* pourrait agir comme un "hub" pour moduler négativement les défenses contre l'agent pathogène (Tran et al. 2018). De plus, chez la souche de *Xoc* BLS256, Tal3c régulerait l'expression d'*ERF#123*, sans pour autant affecter l'état de virulence de la souche (Wang et al. 2017).

4. L'immunité et les TALE

a) La résistance par perte de sensibilité : contournement de l'ETS

Une des stratégies employées par les plantes pour contrer l'action des TALE est la génération de mutations au sein des promoteurs des gènes *S*, de manière à empêcher l'interaction TALE-ADN et donc l'induction du gène *S* (Figure 16.b). On observe alors une résistance dite par "perte de sensibilité". C'est le cas des allèles récessifs de *OsSWEET11/Xa13*, *OsSWEET13/Xa25* et *OsSWEET14/Xa41*, renommés respectivement *xa13*, *xa25* et *xa41* (Hutin et al. 2015a). Il existe une quantité importante de variétés de riz qui portent naturellement un allèle récessif *xa13*. Tous ces allèles diffèrent de *Xa13* par une insertion, délétion ou substitution dans l'EBE de PthXo1 (Römer et al. 2010). En ce qui concerne l'allèle récessif *xa25*, il diffère de *Xa25* par une délétion d'un seul nucléotide localisé dans l'EBE de PthXo2 (Zhou et al. 2015). Et quant à l'allèle récessif *xa41*, une délétion de 18 pb chevauchant les séquences reconnues par les effecteurs Tal5, PthXo3 et AvrXa7 a été identifiée, conférant ainsi une forme de résistance à large spectre (Hutin et al. 2015b).

Un autre cas de résistance par perte de sensibilité apparaît lorsque la mutation est générée au sein de la séquence codante d'un gène. La région C-terminale des TALE contient des domaines qui interagissent avec des facteurs de transcription pour initier l'activation transcriptionnelle, et les unités TFIIA γ ont été décrites comme les facteurs de transcription interagissant avec les TALE dans le riz, les agrumes, le poivron et la tomate (Yuan et al. 2016; Huang et al. 2017). Dans le cas du facteur de transcription TFIIA γ 5, qui code pour l'une des sous-unités gamma du facteur général de transcription A nécessaire à la transcription dépendante de l'ARN polymérase II, on observe chez l'allèle récessif *xa5* un changement du 39^e aa d'une valine en une glutamine (Jiang et al. 2006; Iyer and McCouch 2007). Cette mutation dans le domaine N-terminal de la protéine diminue l'association entre TFIIA γ 5 et le domaine de liaison au facteur de transcription du TALE, ce qui est crucial pour une activation transcriptionnelle efficace (Yuan et al. 2016; Hui et al. 2019a; Han et al. 2020).

b) Induction des gènes exécuteurs (*E*)

Précédemment nous avons abordé le cas de la résistance provenant de la non-induction d'un gène de sensibilité; nous n'étions alors pas dans le cas d'une "ETI", mais dans celui d'une absence de déclenchement de la maladie ou "ETS compromise". Cependant un autre mécanisme de résistance existe, provenant de l'induction par les TALE de gènes dit exécuteurs (*E*), un gène dont l'induction empêche la croissance bactérienne via l'activation de processus de mort cellulaire (Figure 16.b, (Boch et al. 2014).

i. Le premier gène exécuteur identifié

Les gènes *E* codent pour des petites protéines de fonction inconnue et ne ressemblent pas aux protéines de résistance classiques que sont les NB-LRR. Le premier gène de résistance de type *E* à avoir été cloné chez le riz est le gène *Xa27* (Gu et al. 2005). Localisé sur le chromosome 6, il a été isolé par clonage positionnel (Gu et al. 2004). Les souches de *Xoo* portant le gène *tal avrXa27* sont en capacité d'induire *Xa27* et par conséquent la production d'une petite protéine de 113 aa sécrétée dans l'apoplaste, qui est toxique pour la cellule (Zhang et al. 2015). La surexpression de cette protéine entraîne un épaissement des éléments du faisceau vasculaire, ainsi qu'une HR bloquant totalement le développement de la bactériose vasculaire du riz (Wu et al. 2008). La résistance conférée par *XA27* est affectée par le stade de développement, augmentant avec l'âge des plantes et atteignant une résistance maximale à cinq semaines (Gu et al. 2004). Aucune protéine similaire n'a été rapportée en dehors du riz et les séquences protéiques de *XA27* chez la lignée sensible IR24 et la lignée résistante IRBB27 sont identiques. Ce qui les différencie est une délétion de trois nucléotides et la substitution d'un nucléotide dans l'EBE ciblé par *AvrXa27*. Une analyse de la diversité nucléotidique de *Xa27* reposant sur 27 accessions de riz sauvages et cultivés (*O. nivara* et *O. sativa*) a montré qu'IRBB27 était la seule variété à avoir une EBE fonctionnelle (Bimolata et al. 2013).

ii. Les autres gènes exécuteurs connus

A ce jour six gènes *E*, ainsi que leur effecteurs d'avirulence TALE associés, ont été clonés, à savoir *Bs3* et *Bs4C-R* chez le poivron (Römer et al. 2007; Strauß et al. 2012) et *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27* chez le riz (Gu et al. 2005; Tian et al. 2014; Wang et al. 2015a, 2021; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021).

- *Bs3* et *Bs4C*

Chez le poivron, le gène de résistance *Bs3*, isolé par clonage positionnel (Jordan et al. 2006), code pour une protéine de 342 aa présentant des homologies avec les protéines de la famille FMO ("flavin-dépendant mono-oxygénase"), et plus particulièrement avec celles de la sous-classe *Yucca* d'*Arabidopsis* (Römer et al. 2007). Ces dernières sont connues pour jouer un rôle dans la biosynthèse de l'auxine et dans des réponses développementales et physiologiques, et dans la réponse immunitaire. *Bs3* est directement induit par le TALE *AvrBs3* de *X. euvesicatoria*, conduisant à une HR (Römer et al. 2007).

En ce qui concerne le gène *Bs4C*, il est induit par le TALE *AvrBs4* de *X. euvesicatoria* et est le premier gène *E* à avoir été identifié par une approche de transcriptomique, combinée à de la prédiction de cible (Strauß et al. 2012). Ce gène est présent chez les plantes résistantes (*Bs4C-R*) et

sensibles (*Bs4C-S*), et ce qui empêche la fixation de *AvrBs4* au promoteur de *Bs4C-S* s'explique par un polymorphisme de deux nucléotides situé au niveau de son EBE.

- *Xa7*

Xa7 a été identifié à l'origine dans le cultivar de riz DV85 et cartographié finement sur un intervalle d'environ 118,5 kb sur le chromosome 6 (Chen et al. 2008). Ce gène code pour une protéine de 113 aa qui contient des domaines transmembranaires putatifs et qui n'a pas d'homologues chez d'autres plantes. Cette protéine est ancrée dans la membrane du réticulum endoplasmique et son expression ectopique déclenche la mort cellulaire chez les plantes monocotylédones et dicotylédones (Wang 2021). *Xa7* est ciblé par deux TALE, *AvrXa7* et *PthXo3*, et son activation est corrélée à des niveaux élevés de protéines PR et déclenche une HR chez le riz et le tabac en système hétérologue (Chen et al. 2021). De plus, il s'avère que ce gène *R* est plus efficace que d'autres à des températures élevées (Webb et al. 2010). Il a aussi été démontré que le gène *E Xa7* est hautement durable, de part le fait qu'*AvrXa7* joue un double rôle, le premier dans l'avirulence, en ciblant le gène *E Xa7*, et le deuxième dans la virulence, en ciblant le gène *S OsSWEET14* (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010; Chen et al. 2010). *AvrXa7* est considéré comme un facteur de virulence important, car distribué dans diverses souches de *Xoo* (Hopkins, 1992 ; Yang et al., 2000), cependant certaines souches isolées, perdant la capacité d'induire la résistance associée à *Xa7*, ont été rapportées comme faiblement virulentes, vraisemblablement en raison de mutations dans *AvrXa7* (Vera Cruz et al. 2000) **(pour plus de détails voir paragraphe V.5.a)**.

- *Xa10*

Xa10, qui confère une résistance à certaines races de *Xoo* des Philippines, a été identifié pour la première fois à partir du cultivar de riz Cas 209 (Lee et al. 2003; Gu et al. 2008). Ce gène, localisé sur le long bras du chromosome 11, code pour une protéine de 126 aa à quatre hélices transmembranaires qui forme des hexamères (Yoshimura et al. 1995; Tian et al. 2014), Lorsque *Xa10* est induit par le TALE *AvrXa10* de *Xoo*, la protéine se localiserait au niveau du réticulum endoplasmique de la cellule hôte et serait associée, dans un contexte de résistance, à l'augmentation de calcium dans le cytoplasme, ce qui activerait la mort cellulaire programmée. *Xa10* est actif à tous les stades de développement (Tian et al. 2014), et contrairement à *Xa27* et *Bs4C-R*, sa séquence codante est absente dans les variétés sensibles. Cependant, des séquences apparentées sont trouvées dans d'autres variétés, incluant celle de *Xa23* (Wang et al. 2015a).

- *Xa23*

Un autre gène exécuteur *Xa23*, isolé d'une espèce de riz sauvage, *O. rufipogon*, confère un spectre de résistance extrêmement large aux souches de *Xoo* isolées de différentes régions, à tous les stades de croissance du riz. *Xa23*, situé sur le chromosome 11, code pour une protéine de 113 aa qui partage 50% d'identité avec *XA10*, et dont des hélices transmembranaires sont prédites (Wang et al. 2015a). *XA10* et *XA23* possèdent tous deux un motif de fonction inconnue composé de cinq résidus d'aa (EDDEE et DNDDD, respectivement) à l'extrémité C-terminale (Tian et al., 2014). L'altération du motif ED dans *XA10* abolit l'activité HR (Tian et al., 2014). Par ailleurs, il a été démontré qu'en réponse à l'activation transcriptionnelle par *AvrXa23*, *Xa23* déclenche une HR chez le riz, le tabac et la tomate, mais le mécanisme d'activation de la mort cellulaire programmée reste encore inconnu. Comme *Xa27*, *Xa23* partage la même séquence codante que l'allèle sensible *xa23*. Toutefois, il diffère de ce dernier par un polymorphisme de 7pb dans sa région promotrice, entraînant l'induction de *Xa23*, mais pas de *xa23*, par *AvrXa23* (Wang et al. 2015a). *AvrXa23* s'est avéré être fortement conservé dans les populations de *Xoo* testées ce qui explique son large spectre d'efficacité (Wang et al. 2014a).

c) *Xa1/Xo1* et *Bs4C* : des exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant

Deux exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant sont connues à ce jour, les gènes *Bs4* et *Xa1* de la tomate et du riz respectivement, qui codent pour des NB-LRR (Yoshimura et al. 1998; Schornack et al. 2004). Ces derniers ne sont pas induits par les TALE, et reconnaissent ces ET3 indépendamment de leur séquence en RVD et de leur domaine d'activation de la transcription (AD). *Bs4* code pour une protéine TIR-NB-LRR qui est induit de façon constitutive chez la tomate, et dont l'expression n'augmente pas même en présence de *X. euvesicatoria*. Cette protéine NB-LRR perçoit *AvrBs4* dans le cytoplasme de la cellule, conduisant à une HR (Ballvora et al. 2001; Schornack et al. 2004, 2005). *Xa1*, quant à lui, a été le premier gène NB-LRR décrit comme un gène *R* actif contre une maladie bactérienne chez le riz (Yoshimura et al. 1998). Ce NB-LRR contient un domaine zfBED en N-terminal et six répétitions en tandem hautement conservées dans la région C-terminale, qui seraient responsables de la reconnaissance des TALE (Yoshimura et al. 1998; Read et al. 2020a). Plusieurs TALE de *Xoo*, incluant *PthXo1*, *Tal4* et *Tal9d* de la souche PXO99^A, ont été exprimés individuellement dans une souche mutante de PXO99^A ne contenant aucun TALE. Ces souches mutantes ont ensuite été testées sur des variétés portant le gène *Xa1*, telle que IRBB1, et ont été reconnues pour entraîner une HR (Ji et al. 2016). On connaît peu de choses sur le mécanisme de déclenchement de cette HR, mais il a été démontré que *Xa1* agit à l'intérieur du noyau (Figure 16.b, (Ji et al. 2016). Toujours chez le riz un autre gène nommé *Xo1*, allélique de *Xa1*, a été identifié en réponse aux souches Africaines de *Xoc*, agent causal de la BLS, et fonctionne

de façon similaire à *Xa1* (Triplett et al. 2016). *Xo1* est une protéine de type NB-LRR caractérisée par une région N-terminale qui comprend aussi un domaine zfBED et cinq répétitions en tandem hautement conservées (Read et al. 2020a, b). Ce gène déclenche une HR en présence des TALE de *Xoo* et *Xoc*. Il a été démontré que 3,5 répétitions minimum peuvent suffire à la reconnaissance d'un TALE et que cette dernière est abolie en l'absence de la région N-terminale (comme pour *Xa1* et *Bs4*) (Triplett et al. 2016). Récemment d'autres allèles de *Xa1* et *Xo1* ont été caractérisés dans plusieurs variétés de riz, nommés *Xa2*, *Xa14*, *Xa31(t)* et *Xa45(t)* (Ji et al. 2020; Zhang et al. 2020). L'analyse de ces allèles fonctionnels a mis en évidence l'absence systématique d'un motif "intervenant" présent dans les allèles non fonctionnels, ainsi que des différences dans le nombre de répétitions en tandem centrales (4 à 7) qui pourraient expliquer les différences dans leur activité (Zhang et al. 2020). Un criblage phénotypique pour la résistance de type *Xa1* dans 87 accessions de riz a révélé sa présence dans 16 d'entre elles, y compris différentes espèces de riz sauvages et cultivées telles que *O. glaberrima*, *O. nivara* et *O. sativa* (Ji et al. 2020). Une étude complémentaire sur plus de 500 accessions de *O. sativa* a révélé que les allèles de *Xa1* étaient présents chez les sous-espèces *aus*, *indica*, *japonica* tempérées et tropicales (Zhang et al. 2020). En 2016, 2 équipes ont découvert en parallèle deux TALE interférant/tronqués (iTALE/truncTALE) (Tal3a et Tal2h respectivement identifiés chez *Xoo* et *Xoc*) ayant la capacité de supprimer la résistance médiée par *Xa1* et *Xo1* (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). **Ce cas particulier de contournement de la résistance sera détaillé dans le paragraphe suivant (voir V. 5. a)).**

5. Les différents cas de contournement de la résistance par *Xoo*

Comme expliqué précédemment (paragraphe I.4.), le contournement de la résistance, aussi appelée ETS, est une stratégie mise en place par l'agent pathogène pour détourner la PTI et/ou l'ETI, afin de favoriser le développement des symptômes (Jones and Dangl 2006). Ces dernières années plusieurs études ont rapporté différents subterfuges mis en place par les souches de *Xoo* leur permettant de déjouer des gènes de résistance majeurs (Vera Cruz et al. 2000; Ji et al. 2016; Read et al. 2016; Quibod et al. 2020).

a) Contournement de la résistance *Xa4*: expansion de la race 2

La révolution verte ayant remplacé les variétés traditionnelles de riz par des variétés à haut rendement, une pression de sélection uniforme sur les populations de pathogènes a été créée, rendant leur évolution plus rapide. Récemment, Quibod et ses collaborateurs (2020) ont analysé un registre historique unique de pathogènes, afin d'évaluer l'impact d'un gène de résistance majeur, *Xa4*, dans la structure de la population de *Xoo* collectées aux Philippines sur une période de plus de 40 ans (Quibod et al. 2020). Après le déploiement de *Xa4* au début des années 1960, l'émergence de

groupes de pathogènes virulents a été associée par Mew et ses collaborateurs (1992) à l'adoption croissante de variétés de riz portant *Xa4*, qui ont atteint 80 % de la surface totale plantée (Mew 1992). L'analyse des génomes entiers a suggéré que les souches de *Xoo* de la race 2, contournant la résistance *Xa4*, ont développées différents mécanismes d'échappement, reposant sur des mutations telles que le décalage du cadre de lecture, une substitution non synonyme, ou encore un polymorphisme d'expression. Ces mutations toucheraient des fonctions de pathogénicité connues telles que le système de sécrétion, la dégradation de la paroi cellulaire, la détoxification des espèces réactives de l'oxygène et la production de lipopolysaccharides (Quibod et al. 2020).

b) Contournement de la résistance *Xa7*: expansion de la race 9b

Vera Cruz et ses collaborateurs (2000) ont évalué au champs l'adaptation de souches de *Xoo* avirulentes sur des lignées quasi-isogéniques de riz portant les gènes de résistance *Xa4*, *Xa7* et *Xa10* individuellement, et ceux sur trois années, sur deux sites endémiques de la BLB aux Philippines. De ces tests en sont ressorties les conclusions suivantes: sur IR24, variété sensible, ainsi que sur IRBB4 (portant *Xa4*) et IRBB10 (portant *Xa10*), le développement de la maladie est sévère. Au contraire sur IRBB7 (portant *Xa7*) peu de symptômes sont observés. Ces résultats suggèrent alors que *Xa7* reste effectif, dans une moindre mesure, contre les souches de *Xoo* présentes dans ces régions portant *avrXa7* (Vera Cruz et al. 2000). Les souches isolées sur IRBB7 regroupent diverses sous-classes de *Xoo* de la race 9, qui est virulente sur IRBB7. La race 9 se divise en plusieurs sous-groupes allant de la race 9a à 9d, déterminés en fonction i) de la longueur des lésions qu'elle provoque sur IRBB7, ii) de la présence ou absence du système de modification de la restriction *XorI* et iii) de la présence ou l'absence du fragment BamHI correspondant à *avrXa7*. Les souches de la race 9a et 9d n'ont plus la possibilité d'induire *Xa7* dû à des réarrangements génétiques indéterminés ayant provoquer un polymorphisme au locus *avrXa7*, ce qui leur permet de contourner la résistance médiée par *Xa7*. Concernant les souches de la race 9c, elles présentent des mutations à l'extrémité 3' de l'allèle *avrXa7*, en comparaison avec la version connue de *avrXa7*, ce qui fait que comme les souches de la race 9a et 9d elles évitent la résistance médiée par *Xa7*. Et pour finir, les souches de la race 9b possèdent une version intacte de l'allèle *avrXa7* et provoquent de la maladie elles aussi sur IRBB7. Toutefois, Vera Cruz et ses collaborateurs suggèrent que l'agressivité réduite de ces souches sur IRBB7, en comparaison avec les souches des races 9a, 9c et 9d, leur a permis de se maintenir au champs année après année (Vera Cruz et al. 2000). En 2016, Quibod et ses collaborateurs décrivent l'émergence de la race 9b, qui est devenue le groupe le plus répandu après les épidémies de 1992 aux Philippines. Contrairement à ce qui semble être à l'origine de l'expansion de la race 2 (contournement de *Xa4*), pour Quibod et ses collaborateurs il semble très peu probable que le déploiement d'un seul gène de résistance puisse expliquer l'expansion de la race

9b dans tout l'archipel des Philippines. Outre l'aptitude apparente de la race 9b, ils supposent que des changements dans les modes de culture, l'utilisation d'engrais ou des changements environnementaux peuvent avoir contribué à son expansion (Quibod et al. 2016). Cependant à ce jour, le mécanisme d'évitement de la résistance médiée par *Xa7* par les souches de la race 9b, qui possèdent toujours *avrXa7*, reste encore inconnu. Une hypothèse a été émise toutefois, et un supposé nouveau TALE tronqué pourrait être impliqué dans l'évitement de cette résistance (communication personnelle de Perez-Quintero Alvaro Luis).

c) Contournement de la résistance *Xa1/Xo1* : les TALE interférant/tronqués

Parmi la famille des TALE il existe certains effecteurs, caractérisés par des délétions et l'absence de certains domaines fonctionnels, qui jouent un rôle important dans la pathogénicité sans impliquer d'activation transcriptionnelle. Cette catégorie de TALE, connus sous le nom de iTALE (pour "interfering TALE") ou truncTALE (pour "truncated TALE"), ont été rapportés jusqu'à présent uniquement chez des souches de *Xoo* et *Xoc* Asiatiques, respectivement. Leur nom respectif provient de leur rôle d'interférence dans la reconnaissance des TALE par les protéines R de l'hôte, ou encore de leur architecture de TALE tronqué. La différence structurelle entre les TALE classique et les iTALE/truncTALE se base des délétions au niveau de la région N-terminale (après les 306 premiers nucléotides, préservant ainsi le signal d'exportation), ainsi qu'au niveau de la région C-terminale où certains NLS sont encore présents mais ce qui n'est plus le cas pour le domaine d'activation. (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). En l'absence d'iTALE/truncTALE, les NB-LRR *Xa1* ou *Xo1* reconnaissent les TALE et déclenchent la résistance (Figure 16.b). Inversement, l'injection d'un iTALE/truncTALE dans la cellule hôte par l'agent pathogène permet aux TALE traditionnels d'éviter la reconnaissance médiée par *Xa1* ou *Xo1* et d'entraîner le déclenchement ultérieur de la maladie (Figure 16.c, (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). Read et ses collaborateurs (2020) ont mis en avant grâce à une expérience de co-immuno-precipitation (Co-IP) l'interaction du TruncTALE Tal2h avec la protéine NB-LRR *Xo1*. Cependant, si cette interaction est directe ou non reste à être déterminé, et conduit à émettre l'hypothèse que les TruncTALE/iTALE sont en capacité d'empêcher la reconnaissance des TALE par les NB-LRR *Xo1/Xa1*. Toutefois, l'interaction entre *Xo1* et les TALE traditionnels n'a pu être démontré par Co-IP ; ceci pourrait être la conséquence d'une interaction trop transitoire, ou instable, ou bien encore que le phénotype de HR ne permet pas de l'observer (Read et al. 2020b).

6. Les applications des TALE en science

a) Les outils bioinformatiques développés

i. Prédiction des cibles de TALE

Des logiciels bioinformatiques ont été développés depuis la découverte du code TALE, permettant de prédire les cibles potentielles des TALE.

Target Finder est un outil de la suite TAL Effector Nucleotide Targeter (TALE-NT) (<http://tale-nt.cac.cornell.edu/> ; Doyle et al. 2012), qui identifie les sites de liaison potentiels pour un TALE avec une séquence RVD spécifiée par l'utilisateur, en utilisant une matrice de poids de position basée sur les fréquences d'association RVD-nucléotide observées dans les TALE naturels (Doyle et al. 2012). La version web de l'outil possède des génomes et des séquences promotrices pour plusieurs organismes modèles préchargés pour la recherche, mais il accepte également les séquences téléchargées ou collées dans une zone de texte sur le site au format FASTA.

Talvez (<http://bioinfo-prod.mpl.ird.fr/cgi-bin/talvez/talvez.cgi>) recherche les sites de liaison possibles à l'aide d'une matrice de poids de position (PWM) similaire à celle utilisée par Target Finder (Pérez-Quintero et al. 2013). Il diffère de Target Finder en attribuant à certains RVD rares les mêmes comptes d'observation que le RVD commun avec le même résidu en 13ème position, connu pour être le seul déterminant de la spécificité de liaison TALE-ADN. Plusieurs séquences promotrices végétales et fongiques sont préchargées sur le site pour la recherche, ainsi qu'un ensemble de séquences en RVD et un ensemble de séquences nucléotidiques formatées en FASTA dans lesquelles il est possible de rechercher les cibles potentielles de ces chaînes de RVD.

TALgetter (<http://www.jstacs.de/index.php/TALgetter>) fait partie du cadre Jstacs (Grau et al. 2012) et identifie les sites de liaison potentiels en utilisant un modèle de mélange local (Grau et al. 2013b). Dans ce modèle, en plus d'une probabilité pour chaque RVD de s'apparier avec chaque nucléotide, chaque RVD est considéré comme ayant une "importance", indiquant la probabilité qu'il interagisse avec l'ADN. TALgetter accepte en entrée un fichier FASTA de séquences d'ADN pour rechercher des sites de liaison, et la séquence RVD d'un seul effecteur TAL pour interroger les séquences d'ADN. Les génomes de plusieurs animaux modèles, du riz et d'*A. thaliana* sont préchargés pour la recherche, ainsi que les séquences promotrices du riz.

ii. Design des TALE

La séquence en RVD étant modifiable à souhait par des techniques de clonage appropriées, cette découverte a permis le développement de TALE artificiels (ArTALE ou dTALE pour "designerTALE"). Dessinés pour se lier de façon spécifique à une EBE d'intérêt, les ArTALE permettent d'induire n'importe quel gène et représentent un outil idéal pour comprendre le rôle des

gènes de résistance et de sensibilité chez l'hôte. Pour aider à la conception de ces ArTALE/dTALE des outils bioinformatiques ont été développés.

TAL Effector Targeter par exemple, conçoit des réseaux de répétitions (RVD) pour cibler des séquences d'ADN particulières. Il est disponible à la fois en tant que programme open source téléchargeable et en tant qu'outil web faisant partie de la suite TALE-NT (Doyle et al. 2012). Une caractéristique utile de TAL Effector Targeter est sa capacité à évaluer la spécificité des TALE conçus en prédisant les sites de liaison dans la séquence cible prévue, ainsi qu'à indiquer les cibles non désirées ("off-targets").

L'outil d'assemblage de séquences de plasmides TAL (ou "**TAL Plasmids Sequence Assembly Tool** ") (<http://bit.ly/assem-bleTALsequences>) est un site web développé par le laboratoire Bao de l'Institut de technologie de Géorgie qui génère les séquences d'ADN plasmidique nécessaires pour fabriquer des constructions de TALE en utilisant différentes méthodes d'assemblage.

iii. La suite QueTAL

La suite QueTAL a été développée pour offrir des outils sur mesure pour la comparaison des gènes *tal* : DisTAL et FuncTAL. Ces outils permettent d'aligner et de classer les séquences de gènes *tal* en fonction de leur région centrale de répétition (Pérez-Quintero et al. 2015).

Le programme DisTAL considère chaque répétition d'un TALE comme une unité, il transforme alors la séquence d'un TALE en une séquence de répétitions codées et fait des alignements par paire entre plusieurs séquences, afin d'inférer des relations phylogénétiques entre les gènes et construire des arbres. L'algorithme utilisé pour comparer les séquences était initialement conçu pour comparer les séquences microsatellites (ARLEM version 1.0, (Abouelhoda et al. 2010). Le programme FuncTAL, quant à lui, a pour but de trouver des TALE ayant des capacités de liaison à l'ADN similaires. Il calcule les corrélations entre les matrices de poids de position de la séquence d'ADN cible potentielle, prédite à partir de la séquence en RVD, et construit des arbres basés sur ces corrélations. Ensemble, ces programmes ont pour but d'aider les chercheurs à déduire les relations évolutives et fonctionnelles au sein et entre les groupes d'effecteurs TAL (Pérez-Quintero et al. 2015).

Par exemple, l'outil DisTAL a été utilisé par Lang et ses collaborateurs (2019) pour une étude de génomique comparative, ce qui leur a permis de regrouper les souches de *X. oryzae* pv. *leersiae* et de *Xoo* Africaines dans un même sous-groupe, comprenant également des *Xoc*. Cet outil a également permis de classer les TALE de *X. oryzae* pv. *leersiae* en 12 groupes (Lang et al. 2019).

b) TALE et édition de génome

Les TALE accompagnés d'autres protéines ont été utilisés non seulement pour l'activation ciblée de gènes, comme décrit précédemment, mais aussi pour la répression de gènes, la modification de la chromatine, le marquage de la chromatine pour la visualisation et la capture (Miyanari et al. 2013; Byrum et al. 2013; Fujita et al. 2013), et plus largement, pour l'édition du génome, en tant que TALE nucléases (TALEN pour "TAL Effector Nuclease") (Voytas and Joung 2009; Bogdanove and Voytas 2011). La technologie TALEN est un autre outil important issu de la découverte du code TALE, qui permet entre autres de créer des cassures double-brin dans l'ADN à un endroit précis du génome, quant fusionné à un domaine nucléase (e.g. FokI) (Voytas and Joung 2009; Bogdanove and Voytas 2011). La conception des TALEN demandant certaines exigences, c'est pourquoi plusieurs outils informatiques ont été développés pour aider à la conception, ainsi qu'à l'assemblage et à la prédiction des cibles non désirées (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009; Christian et al. 2010; Miller et al. 2010; Streubel et al. 2012; Meckler et al. 2013).

TALEN Targeter, qui fait partie de la suite d'outils TALE-NT (Doyle et al. 2012), conçoit des TALEN qui ciblent des séquences spécifiées par l'utilisateur. Une caractéristique clé de TALEN Targeter est sa capacité à évaluer la spécificité des TALEN conçus en prédisant tous les sites cibles potentiels dans la séquence d'entrée. **TALENoffer** (<http://www.jstacs.de/index.php/TALENoffer>) est une extension du modèle TALgetter qui prédit les sites cibles pour les TALEN (Grau et al. 2013a). D'autres logiciels de design de TALEN sont disponibles : **Mojo Hand** (<http://talendesign.org/>) (Neff et al. 2013), **E-TALEN** (<http://www.e-talen.org/>) (Heigwer et al. 2013), **SAPTA** (http://baolab.bme.gatech.edu/Research/Bioinformatic-Tools/TAL_targeter.html) (Lin et al. 2014), et **PROGNOS** (<http://baolab.bme.gatech.edu/Research/BioinformaticTools/prognos.html>) qui prédit les cibles non désirées ("off-targets") des TALEN et fournit des séquences d'amorces pour le séquençage d'amplicons à sur la cible après le traitement TALEN (Fine et al. 2014). Il est hébergé sur le même site web que SAPTA mais n'est pas intégré à SAPTA.

En 2012, une nouvelle découverte vient révolutionner la biologie : le mécanisme CRISPR-Cas9 de défense bactérienne contre les virus (Jinek et al. 2012). Alors que l'outil de biotechnologie TALE, TALEN, est en plein essor, l'utilisation du système CRISPR-Cas9, entre autres pour éditer les boîtes cibles des TALE, monte en flèche, provoquant une véritable révolution dans le domaine de la biologie. La nucléase Cas9 est contrôlée dans sa spécificité de cible par l'intégration d'un ARN guide. Dans le système naturel, cet ARN est formé de deux composants exprimés à partir du locus CRISPR ("Clustered Regulatory Interspaced Short Palindromic Repeat") : le crRNA contenant la séquence cible et un tracrRNA impliqué dans le traitement du pré-crRNA et l'assemblage du

complexe Cas9. Des méthodes alternatives ont été explorées pour fusionner ces deux composants et les exprimer à partir d'un seul gène, créant ainsi la séquence de l'ARN guide ou ARNsg ("single guide") (Hsu et al. 2013). Au sein de celle-ci, une région de 20 pb, appelée espaceur, guide la nucléase Cas9 vers une séquence cible complémentaire, appelée protospacer. La spécificité de la cible est modifiable en changeant la séquence de l'espaceur. Depuis CRISPR-Cas9, les TALEN semblent être devenus un lointain souvenir dans l'édition du génome. Néanmoins, les technologies basées sur les TALEN continuent d'être utilisées et trouvent une place dans les applications où elles offrent des avantages par rapport au système breveté CRISPR-Cas9 (De Lange et al. 2014; Lebar and Jerala 2016).

VI. *Xanthomonas oryzae*

1. L'espèce *X. oryzae*

a) Origines et répartitions

L'espèce *X. oryzae* est composée de plusieurs pathovars/sous-espèces, dont les origines et répartitions sont variées. La BLB ("Bacterial Leaf Blight" ou bactériose vasculaire) a été caractérisée pour la première fois dans la préfecture de Fukuoka au Japon en 1884. On pensait à l'origine qu'elle était causée par un sol acide (Tagami and Mizukami 1962; Mew 1989). En 1909, des bactéries ont été isolées des gouttes de rosée de feuilles de riz infectées, et la maladie a été reproduite en inoculant ces gouttes à des feuilles saines. Peu après, son étiologie en tant que maladie bactérienne a été établie, et l'agent causal a été isolé et classé comme *Bacillus oryzae* (cité par Mizukami and Wakimoto 1969). La bactérie a été rebaptisée *Pseudomonas oryzae*, puis *Xanthomonas oryzae* (Ishiyama, 1922). En 1978, elle a été reclassée sous le nom de *X. campestris* pv. *oryzae* (Dye, 1978). Concernant la BLS ("Bacterial Leaf Streak" ou bactériose à stries foliaires) cette maladie bactérienne a été découverte pour la première fois aux Philippines en 1918 et nommée "bacterial stripe" (cité par Ou, 1972) bien qu'elle ait été appelée à tort "bacterial blight" pendant plusieurs années. En 1957, Fang et ses collaborateurs caractérisent de nouveau la maladie et la distinguent de la bactériose vasculaire; elle est nommée bactériose à stries foliaires. L'agent causal de cette maladie reçoit alors le nom de *Xanthomonas oryzicola* (cité par Ou, 1972). L'agent pathogène a ensuite été renommé *X. translucens* f. sp. *oryzae* (cité par Ou, 1972), puis *X. translucens* f. sp. *oryzicola* et enfin *X. campestris* pv. *oryzicola* (Ou 1985). En 1990, les deux pathogènes, de la BLB et BLS, ont été élevés à leur statut actuel de nouvelle espèce et nommés *X. oryzae* pv. *oryzae* et *X. oryzae* pv. *oryzicola* (Swings et al. 1990; Goto 1992). Ces pathovars appartiennent à la famille des *Xanthomonadaceae* et sont de la classe des *Gammaproteobacteria*. La BLB et la BLS sont endémiques dans une grande partie de l'Asie et dans certaines parties de l'Afrique de l'Ouest. La BLB est répandue dans les zones tropicales et tempérées, et a également été signalée en Australie,

en Amérique latine et dans les Caraïbes (Mew 1993). En Afrique, la BLB a été signalée pour la première fois au Mali en 1979 (Buddenhagen 1979), puis elle a ensuite été rapportée au Sénégal, au Niger, au Nigeria, au Gabon, en Mauritanie, au Bénin, au Cameroun, et plus récemment au Burkina Faso (Trinh 1980; Reckhaus 1983; Manser 1984; Jones et al. 1991; Gonzalez et al. 2007). La BLS quant à elle, est limitée en grande partie à l'Asie tropicale et subtropicale, y compris le sud de la Chine, la Thaïlande, la Malaisie, l'Inde, le Vietnam, les Philippines et l'Indonésie, mais elle touche également les régions rizicoles du nord de l'Australie (Singh et al. 1980; Ou 1985; Sigee 1993; Awoderu et al. 2008) et est devenue récemment un problème important dans certaines parties de l'Afrique de l'Ouest (Wonni et al. 2011). Depuis ces dernières années la BLS a aussi été identifiée à Madagascar (Poulin et al. 2014), en Ouganda (Afolabi et al. 2014), au Burundi (Afolabi et al. 2016) et en Côte d'Ivoire (Diallo et al. 2021).

Bien que *X. oryzae* ne soit pas considérée comme endémique aux Etats-Unis (Niño-Liu et al. 2006), une bactérie semblable a été isolée du riz et d'une graminée pérenne *Leersia hexandra* dans des rizières du Texas et de Louisiane en 1987 (Jones 1989). Un projet de séquençage génomique de deux souches américaines de *Xanthomonas* (X11-5A (Texas) et X8-1A (Louisiane)) a révélé que les souches américaines forment un nouveau clade au sein de l'espèce *X. oryzae*, distincte de toutes les souches connues pour causer des pertes de rendement importantes. Les souches américaines sont peu virulentes sur le riz (Jones 1989) et génétiquement distinctes des pathovars caractérisés jusqu'alors de *X. oryzae* (*Xoo* et *Xoc*) (Ryba-White et al. 1995). Il a été démontré que la plupart des souches américaines sont porteuses d'un ou plusieurs plasmides et sont dépourvues de TALE (Ryba-White et al. 1995). Ces résultats ont conduit à supposer que les souches américaines de *Xanthomonas* étaient très divergentes de celles trouvées en Asie et n'avaient pas pénétré aux États-Unis dans un passé récent.

Une autre espèce, *X. campestris* pv. *leersiae* (*Xcl*) renommée ultérieurement *X. oryzae* pv. *leersiae* (*Xol*), a été décrite pour la première fois en 1957 (Fang et al. 1957). Cette bactérie provoque une strie bactérienne sur *Leersia hexandra*, une herbe commune que l'on trouve dans le sud des États-Unis, en Amérique du Sud, en Afrique et en Asie. Il est intéressant de noter que cette plante et d'autres graminées de ce genre, comme *Leersia sayanuka*, *Leersia oryzoides* et *Leersia japonica*, sont sensibles à *Xoo* (Noda and Yamamoto 2008) et peuvent servir de réservoirs pour l'inoculum (Gonzalez 1991). Par rapport à la souche virulente de *Xoo*, PXO99^A, les souches *Xol* sont moins agressives sur le riz, et provoquent des stries foliaires moins étendues sur plusieurs variétés de riz. Les études de Lang et ses collaborateurs montrent que *Xol* est un pathogène de *Leersia hexandra* et est légèrement pathogène pour diverses variétés de riz, mais qu'elle ne provoque pas de maladie sur l'orge ou le blé, et que certaines variétés de riz présentent une résistance à *Xol* (Lang et al. 2019).

NIL	<i>Xa</i> gene	New <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> races									Effectiveness of resistance (%)	
		A3	A4	A5		A6		A7	A8	A9	W- <i>Xa23</i>	N- <i>Xa23</i>
				A5-1	A5-2	A6-1	A6-2					
IR 24	<i>Xa18</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 1	<i>Xa1</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	67	57
IRBB 3	<i>Xa3</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	89	86
IRBB 4	<i>Xa4</i>	R	R	R	R	S	S	R	S	S	56	57
IRBB 5	<i>xa5</i>	R	R	S	S	S	S	S	S	S	22	29
IRBB 7	<i>Xa7</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 8	<i>xa8</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 10	<i>Xa10</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 11	<i>Xa11</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 13	<i>xa13</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 14	<i>Xa14</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 21	<i>Xa21</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 23	<i>Xa23</i>	R	S	S	R	R	S	S	S	S	33	–
Strains with <i>Xa23</i> (n)		5	6	7	3	2	11	2	5	4	–	–
Strains without <i>Xa23</i> (n)		5	6	10		13		2	5	4	–	–

Tableau 3. Races de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Africaines sur 12 lignées de riz quasi-isogéniques (NILs) contenant un seul gène de résistance dans le fond génétique IR24.

Quarante-cinq souches de *X. oryzae* pv. *oryzae* (41 souches de cette étude et quatre souches de référence) se regroupent en sept races notées A3 à A9. En utilisant *Xa23* dans le criblage des NILs, les races les plus dominantes et les plus hétérogènes (A6 et A5) sont subdivisées en deux sous-clusters de virulence. Chaque race est caractérisée par son profil de virulence sur les NILs et le nombre de souches lui appartenant est indiqué. La capacité des gènes *Xa* à contrôler les différentes races est affichée. W-*Xa23* = avec *Xa23*, N-*Xa23* = sans *Xa23*, R = résistant (longueur des lésions \leq 5 cm), et S = sensible (longueur des lésions $>$ 5 cm). D'après (Tekete et al. 2020).

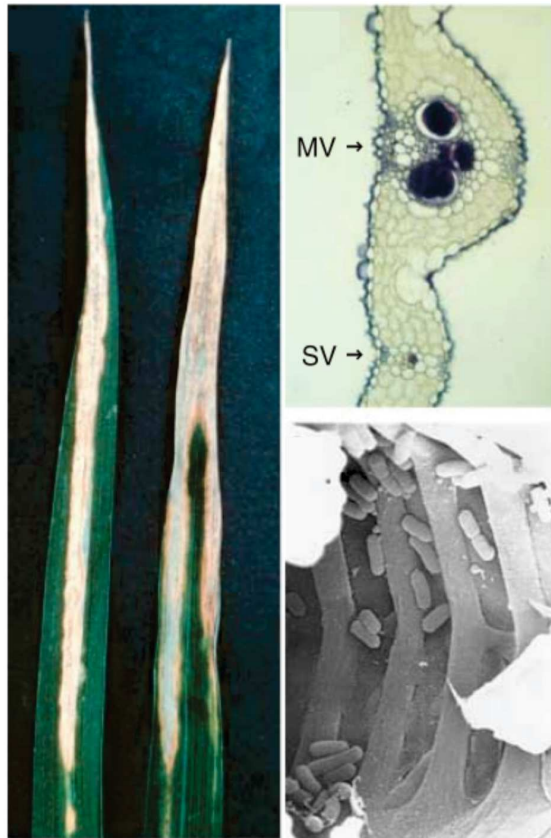
b) Diversité de *X. oryzae*

Les souches de *Xoo* peuvent être classées en différentes races en fonction des phénotypes de résistance observés sur des variétés de riz définies (Gonzalez et al. 2007). Des lignées quasi-isogéniques de riz (NIL également connues sous le nom de lignées IRBB) sont disponibles pour de nombreux gènes de résistance à la BLB, connus également sous le nom de *Xa*, y compris des lignées possédant un ou plusieurs gènes *R* (Ogawa et al. 1991; Huang et al. 1997). Les lignées IRBB ont été construites avec le fond génétique sensible de la variété IR24 (*indica*) dans lequel ont été introgressés les gènes de résistance *Xa* (e.g. les lignées IRBB1, IRBB2, etc, possède respectivement le gène de résistance *Xa1*, *Xa2*, etc). Une collaboration entre l'IRRI (Institut international de recherche sur le riz, Manilla, Philippines) et le Japon a permis d'établir des NIL, comme les IRBB, aussi dans le fond Toyonishiki (*japonica* tempéré), et les deux types de NIL (fond génétique IR24 et Toyonishiki) sont largement utilisées pour la caractérisation des races de *Xoo* (Ogawa 1993). À ce jour, plus de 30 races de *Xoo* Asiatiques ont été découvertes, ainsi que 9 races de souches Africaines de *Xoo* (Tableau 3, (Tekete et al. 2020).

Au laboratoire, les souches des deux pathovars (*Xoo* et *Xoc*) sont identifiées par des méthodes d'inoculation sur des plantes hôtes sensibles et différenciées en fonction du type de symptômes phénotypiques qu'elles présentent (Figure 19, (Yang and Bogdanove 2013). Outre l'observation des symptômes, et pour un diagnostic plus fiable, d'autres outils d'analyse de la diversité inter-espèces ont été développés tels que : la PCR multiplex, le diagnostic par LAMP ("loop-mediated isothermal amplification"), l'utilisation de marqueurs moléculaires de type AFLP, RFLP, RAPD ou encore la technique de MLST ("multilocus sequence typing"). En plus de la discrimination des pathovars, d'autres tests ont été développés pour différencier les souches de *X. oryzae* d'Afrique et d'Asie. En 2015, Poulin et ses collaborateurs développent un outil d'analyse de la diversité et de la structure des populations de *Xoo* : MLVA-16 (Multi locus VNTR Analysis) permettant de discriminer les souches de *X. oryzae*, ainsi que pour la surveillance de la BLB et de la BLS à différentes échelles temporelles et géographiques (Poulin et al. 2015).

En 2019, Lang et ses collaborateurs calculent l'ANI ("average nucleotide identity") entre cinq souches de *Xol* et tous les génomes de *X. oryzae* entièrement séquencés (Rodriguez-R and Konstantinidis 2016; Lang et al. 2019). Cette analyse a montré que les souches de *Xol* sont identiques à 99-100 % les unes aux autres, et qu'elles sont identiques entre 97 % et 99 % aux souches US de *Xo*, aux *Xoc* et aux *Xoo*, et se rapprochant des *Xoc* à 98,5 %. Par ailleurs, les *Xol* sont 76-91% similaires aux autres espèces de *Xanthomonas*. La prédiction computationnelle des ET3 parmi les protéines annotées dans chaque génome a révélé que le répertoire d'ET3 non-TALE de *Xol* ressemble plus étroitement à celui de *Xoc*. Néanmoins, certaines caractéristiques sont uniques à *Xol*. Il a été rapporté que les souches de *Xol* contenaient 12 ou 13 *tal* chacune, ce qui est

*Xanthomonas
oryzae* pv. *oryzae*



*Xanthomonas
oryzae* pv. *oryzicola*

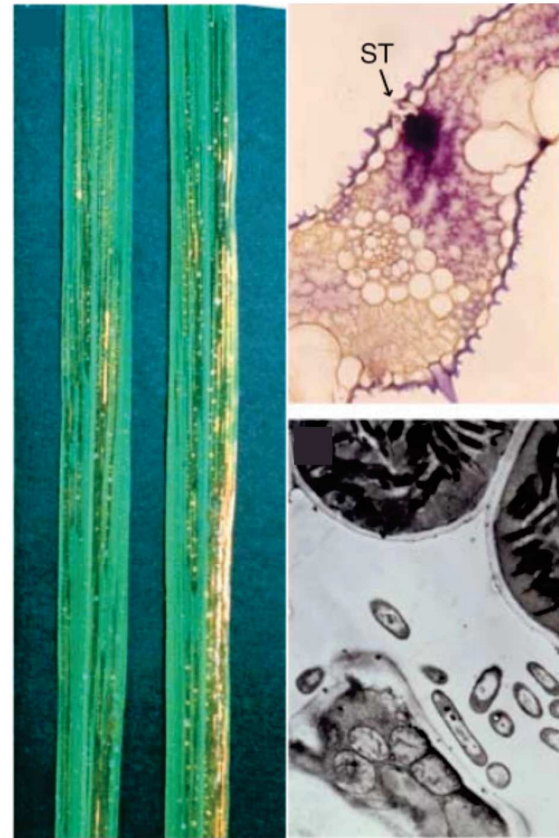


Figure 19. Symptômes typiques provoquées par *Xoo* et *Xoc* sur le riz, et leur localisation cellulaire lors de l'infection.

Spécificité du tissu hôte des pathovars de *Xanthomonas oryzae*. Panel de gauche : Feuilles de riz avec des lésions de bactériose s'étendant le long des nervures à partir de l'extrémité et des bords de la feuille, résultant de l'invasion du xylème via les hydathodes par *X. oryzae* pv. *oryzae*. Coupe transversale d'une feuille de riz infectée par *X. oryzae* pv. *oryzae*, colorée pour montrer l'emplacement des cellules bactériennes, apparaissant en bleu foncé à violet dans les vaisseaux du xylème de la nervure moyenne (MV) et d'une nervure secondaire (SV). Micrographie électronique à balayage de cellules de *X. oryzae* pv. *oryzae* dans un vaisseau du xylème d'une feuille de riz.

Panel de droite : Feuilles de riz présentant des symptômes de stries foliaires causés par la colonisation du tissu internervaire via les stomates par *X. oryzae* pv. *oryzicola*. Coupe transversale d'une feuille de riz infectée par *X. oryzae* pv. *oryzicola* colorée montrant la colonisation bactérienne de la chambre sous-matale et du parenchyme du mésophylle. Stomate (ST). Micrographie électronique à transmission des cellules de *X. oryzae* pv. *oryzicola* dans les espaces intercellulaires du parenchyme mésophylle d'une feuille de riz. D'après (Nino-Liu et al. 2006).

plus que les neuf *tal* par génome trouvés chez les *Xoo* africaines, et moins que ce qui est communément trouvé chez les *Xoc* (22-29 *tal*) et *Xoo* asiatiques (13-20 *tal*). Aucun TALE tronqué n'a été identifié dans les génomes de *Xol*. Par ailleurs, en comparant les régions centrales des TALE présents chez les souches de *Xoo*, *Xoc* et *Xol*, une nouvelle combinaison de RVD "TI", non rapportée précédemment chez d'autres espèces, a été identifiée (Lang et al. 2019).

2. *X. oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

L'agent responsable de la bactériose vasculaire du riz, considérée comme la maladie la plus dévastatrice du riz en Asie, est la bactérie à gram négatif *Xoo*. La BLB peut en effet causer jusqu'à 50 % de perte de rendement en fonction de la variété de riz, du stade de croissance de l'infection, de l'emplacement géographique et des conditions environnementales (Liu et al. 2014). *Xoo* colonise les feuilles via les hydathodes, et/ou via les blessures. Une fois entrée, elle se multiplie dans l'espace intercellulaire sous-jacent et se propage de façon systémique dans le reste de la plante via les vaisseaux du xylème. Les symptômes caractéristiques de la BLB sont des lésions jaunes ou vertes foncées aqueuses puis nécrotiques qui se propagent le long de la feuille au fur et à mesure de l'avancée bactérienne. Ceci entraîne un dessèchement des tissus photosynthétiques affectant le rendement en grain (Niño-Liu et al. 2006). Les TALE sont des facteurs de virulence majeurs au sein de ce pathosystème.

3. Les souches Africaines de *Xoo* vs les souches Asiatiques de *Xoo*

a) Les différences générales entre les souches de *Xoo* Africaines et Asiatiques

La plupart des études sur les souches de *Xoo* ont été réalisées sur les souches Asiatiques. Les souches Africaines de *Xoo* découvertes plus récemment (1980) sont génétiquement éloignées des souches Asiatiques et étroitement apparentées aux bactéries du pathovar *oryzicola* (*Xoc*) (Figure 20). Une caractéristique particulière des *Xoo* Africaines est leur TALome restreint par rapport aux *Xoo* Asiatiques, avec respectivement jusqu'à 9 et jusqu'à 19 copies. Par ailleurs, aucun TALE n'est conservé entre les souches Africaines et Asiatiques (Lang et al. 2019). En 2018, l'analyse comparative du TALome de plusieurs souches Africaines a mis en évidence que, malgré la haute conservation des TALomes africains, plusieurs groupes TALE sont polymorphes au niveau de leur RVD (Figure 21, (Doucouré et al. 2018; Tran et al. 2018). Les *Xoo* Africaines se distinguent également par le nombre et le type de races qu'elles constituent (9 vs >30 pour les Asiatiques), et dont aucune n'a jamais été rapportée en Asie (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020).

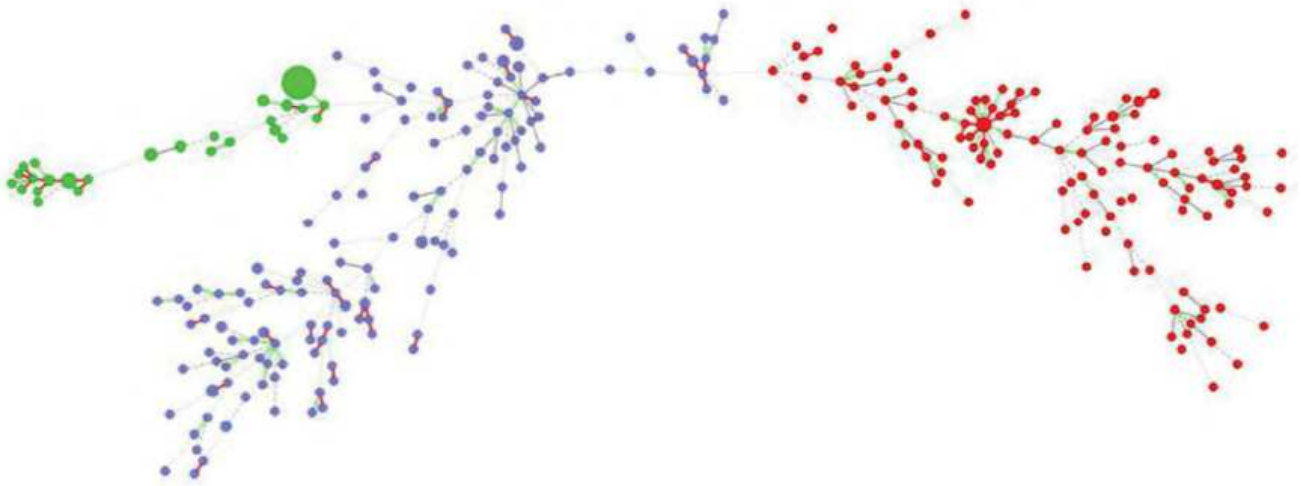


Figure 20. "Minimum spanning tree" d'une collection mondiale de *Xanthomonas oryzae*.

L'outil MLVA16 ("Multi Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis 16 loci panel") a permis l'analyse de 16 locus de *Xanthomonas oryzae* à partir de "variable number tandem repeat" (VNTR). Les cercles sont proportionnels au nombre de souches par haplotype, et cette représentation permet d'observer les distances génétiques des différentes souches de *Xo*. Vert : *Xoo* d'Afrique, rouge : *Xoo* d'Asie et bleu : *Xoc*. Le MST a été généré à l'aide de Bionumerics 7.1. D'après (Poulin et al. 2015).

Bien que différentes sur un bon nombre de traits, les souches Africaines et Asiatiques de *Xoo* déclenchent la maladie chez le riz via le même mécanisme, et l'induction de cibles communes telles que *OsSWEET14* et *OsTFX1* (Figure 18).

b) Déclenchement de la résistance : des cibles diverses

Le pathosystème Riz-*Xoo* constitue un système modèle pour l'étude des interactions plantes-pathogènes au niveau moléculaire. Des recherches intensives au cours de la dernière décennie ont révélé que la résistance et la sensibilité du riz à *Xoo* sont généralement contrôlées par des interactions moléculaires entre les effecteurs de *Xoo* et ses gènes cibles chez le riz. Actuellement, 46 gènes *R* à *Xoo* ont été découverts chez le riz (Cheema et al. 2008; Busungu et al. 2016; Vikal and Bhatia 2017). Ces gènes ont été identifiés à partir de populations mutantes, d'espèces de riz cultivées et sauvages et confèrent une résistance contre différentes souches de *Xoo* (Tableau 4). Sur les 46 gènes, 16 sont récessifs et 12 ont été clonés et caractérisés. Les gènes de résistance identifiés codent pour différents types de protéines qui suggèrent de multiples mécanismes de résistance à *Xoo* (Liu et al. 2011c; Tian et al. 2014). La majorité de ces gènes confèrent une résistance complète, spécifique à la race de l'agent pathogène. Parmi les 12 gènes *R* du riz, qui contrôlent *Xoo*, caractérisés à ce jour, neuf (*Xa1*, *xa5*, *Xa7*, *Xa10*, *xa13*, *Xa23*, *xa25*, *Xa27*, *xa41*) médient la résistance associée aux TALE de l'agent pathogène, et seulement trois (*Xa3/Xa26*, *Xa4* et *Xa21*) codent pour des protéines kinases. *Xa4*, par exemple, est un gène dominant de résistance à la BLB et a été cartographié sur le chromosome 11 en utilisant le marqueur de liaison RM224 (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Récemment, Hu et al. (2017) ont montré que *Xa4* code pour une protéine kinase associée à la paroi cellulaire ("wall-associated kinase" - WAK) (Hu et al. 2017). L'activation de *Xa4* favorise la synthèse de la cellulose, par augmentation de l'expression du gène codant pour la Cellulose synthase A (*CesA*). Elle empêche aussi le relâchement de la paroi cellulaire inhibant l'expression du gène codant pour des expansines, aboutissant au renforcement de cette dernière. La caractérisation *in vitro* de la protéine XA4 a révélé que son domaine kinase est capable d'autophosphorylation. Par ailleurs, les variétés dans lesquelles a été introgressé *Xa4* ont manifesté une résistance à large spectre et durable, pratiquement à tous les stades végétatifs de la culture. La protéine XA21, quant à elle, a le format classique d'un récepteur kinase, avec un domaine LRR extracellulaire, une région membranaire et un domaine protéique kinase intracellulaire (Ellis and Jones 1998). Ce récepteur reconnaît une protéine sulfatée sur son résidu tyrosine (Y41), nommé RaxX, activant ainsi l'expression de gènes marqueurs des voies de défense, la production de ROS et d'éthylène (Pruitt et al. 2015).

Parmi les neuf gènes qui médient une résistance TALE-dépendante, quatre sont des gènes de type *E* (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*) uniquement induits par les TALE des souches Asiatiques de *Xoo* (Zhu

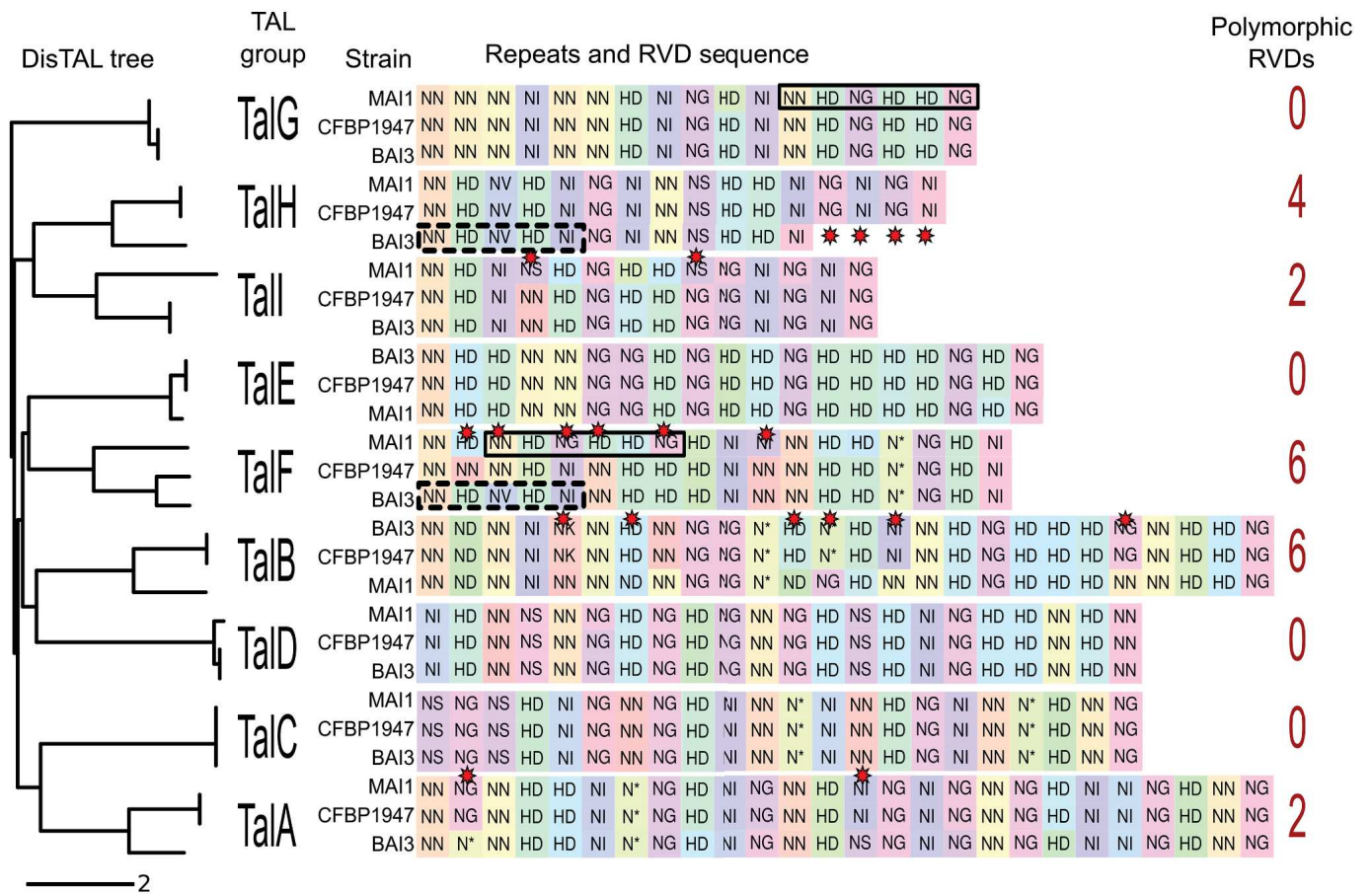


Figure 21. Représentation et alignement des séquences en RVD des TALE des souches Africaines MAI1, BAI3 et CFBP1947 de *Xoo*.

Les alignements en RVD des TALE et variants de chacune des trois souches sont représentés pour chacun des neuf groupes (TalA à TalI). Des couleurs de fond différentes pour un même RVD indiquent que les codons diffèrent. Les étoiles rouges indiquent des polymorphismes de RVD. Les rectangles en trait plein mettent en évidence les répétitions partagées par TalF et TalG de MAI1, ceux en pointillés soulignent ceux qui sont communs à TalF et TalH de BAI3. D'après (Tran et al. 2018).

et al. 1998; Gu et al. 2009; Wang et al. 2014a). Quatre sont des gènes récessifs induisant la résistance par perte de sensibilité (*xa5* (*OsTFIIA γ 5*), *xa13* (*OsSWEET11*), *xa25* (*OsSWEET13*) et *xa41* (*OsSWEET14*) (Römer et al. 2010; Liu et al. 2011c; Hutin et al. 2015b) et un seul est un gène de type NB-LRR (*Xa1*) (Yoshimura et al. 1998; Ji et al. 2016). Le faible nombre de gènes *R* codant pour des NB-LRR dans ce pathosystème est très particulier car les gènes *R* de type NB-LRR sont les principaux acteurs de la résistance à d'autres pathogènes. Par exemple dans le cas de *M. oryzae* avec *Pib* ou encore *Pi-ta*, qui codent pour des protéines NB-LRR reconnaissant respectivement *AvrPib* et *AvrPi-ta* (Liu and Wang 2016).

De manière intrigante, aucun gène *S* qui serait ciblé par les TALE *AvrXa10*, *AvrXa23* et *AvrXa27* des souches Asiatiques de *Xoo* n'a été identifié jusqu'à aujourd'hui. En revanche, *AvrXa7* joue un double rôle dans la sensibilité et la résistance, en induisant à la fois *OsSWEET14* et *Xa7* dans les variétés porteuses de ce dernier (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010). *AvrXa27* et *AvrXa23* sont conservés dans diverses souches de *Xoo* ; par conséquent, *Xa27* et *Xa23* ont été largement appliqués dans les programmes de sélection du riz, et les variétés qui en résultent présentent une résistance à large spectre contre les souches de *Xoo*. Par ailleurs, certains de ces gènes *R* ont été introgressés séparément ou de manière pyramidale chez le riz (Sundaram et al. 2007; Pandey et al. 2012).

Un profilage préliminaire des races de *Xoo* sur les lignées IRBB a rapporté le potentiel de *Xa4*, *xa5* et *Xa7*, ou de gènes co-ségrégant avec ces derniers, pour contrôler quelques *Xoo* Africaines du Burkina Faso, du Niger et du Cameroun, mais le spectre de résistance de ces gènes doit encore être évalué sur un plus grand ensemble de souches (Gonzalez et al. 2007). Il est intéressant de noter qu'une analyse plus récente d'un panel plus large de souches de *Xoo* du Mali a donné une image différente, soulignant que la NIL portant *Xa3* est capable de contrôler six des sept races dans ce pays, ce qui correspond à 89% des isolats testés (Tableau 3). De plus, *Xa1* apparaît comme un des deux gènes *R* les plus prometteur en termes de spectre de résistance pour la population malienne de *Xoo* (Tekete et al. 2020). En raison de la sélection artificielle et naturelle des gènes de résistance à la BLB, les bactéries continuent d'évoluer. Par conséquent, il est nécessaire de caractériser au mieux de nouvelles sources de résistances afin d'anticiper les contournements bactériens futurs.

Gene R	Chromosome	Localisation (kpb)	Position (cM)	Contrôle Xoo	Remarques	Références
<i>Xa1</i>	4	6,697	31 638 099 - 31 644 795	Asie, (Japon, race 1) et Afrique	Dominant, cloné et caractérisé	(Yoshimura et al. 1998)
<i>Xa2</i>	4	-	-	Asie (Japon, race 2A)	Dominant	(He et al. 2006)
<i>Xa3/Xa26</i>	11	3,414	28 399 360 - 28 402 773	Asie (Philippines, races 1, 2, 6)	Dominant, cloné et caractérisé	(Sun et al. 2004; Xiang et al. 2006)
<i>Xa4</i>	11	-	-	Asie (Philippines, race 1)	Dominant, cloné et caractérisé	(Petpisit et al. 1977)
<i>xa5</i>	5	6,261	437 010 - 443 270	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Petpisit et al. 1977)
<i>Xa6/xa3</i>	11	-	-	Asie (Japon)	Dominant	(Sidhu et al. 1978)
<i>Xa7</i>	6	-	-	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Chen et al. 2021; Luo et al. 2021)
<i>Xa8</i>	7	-	-	Asie	Récessif	Singh et al. 2002
<i>Xa9</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Ogawa 1988)
<i>Xa10</i>	11	0,943	22 203 734 - 22 204 676	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Tian et al. 2014)
<i>Xa11</i>	3	-	-	Asie (Japon, races 1B, 2, 3A, et 5)	Dominant	(Goto et al. 2009)
<i>Xa12</i>	4	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa13</i>	8	2,843	26 725 952 - 26 728 794	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa14</i>	4	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa15</i>	-	-	-	Asie	Récessif	Ogawa 1996
<i>Xa16</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa17</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa18</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa19</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa20</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa21</i>	11	3,595	20 802 924 - 20 806 518	Asie (race 6)	Dominant, cloné et caractérisé	(Song et al. 1995)
<i>Xa22(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa23</i>	11	0,943	22 203 734 - 22 204 676	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Wang et al. 2015)
<i>xa24</i>	2	-	-	Asie	Récessif	Khush and Angeles

						1999
<i>xa25(t)</i>	12	3,254	17 302 073 - 17 305 326	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Liu et al. 2011)
<i>xa26(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Lee et al. 2007)
<i>Xa27(t)</i>	6	-	-	Asie	Dominant cloné et caractérisé	(Gu et al. 2005)
<i>xa28(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Lee et al. 2007)
<i>Xa29(t)</i>	1	-	-	Asie	Dominant	(Tan et al. 2004)
<i>Xa30(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Cheema et al. 2008)
<i>xa31(t)</i>	4	-	-	Asie	Récessif	(Wang et al. 2009)
<i>xa32(t)</i>	11	-	-	Asie	Récessif	(Zheng et al. 2009)
<i>Xa33</i>	7	-	-	Asie	Dominant	(Natarajkumar and Mishra 2008)
<i>Xa33(t)</i>	-	-	-	Asie	Dominant	Korinsak et al. 2009
<i>xa34(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Chen et al. 2011)
<i>Xa35(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Guo et al. 2010)
<i>Xa36(t)</i>	-	-	-	Asie	Dominant	Miao et al. 2010
<i>Xa38</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Bhasin et al. 2011)
<i>Xa39</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Zhang et al. 2015)
<i>Xa40(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Kim et al. 2015)
<i>xa41(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif, caractérisé	(Hutin et al. 2015b)
<i>xa42</i>	3	-	-	Asie, (Japon race 1, 2A, 2B, 3, 4 et 5)	Récessif	(Busungu et al. 2018)
<i>Xa43(t)</i>	11	27 560 - 27 990	-	Asie	Dominant	(Kim and Reinke 2019)
<i>xa44(t)</i>	11	28 000 - 28 120	-	Asie	Récessif	(Kim 2018)
<i>Xa45(t)</i>	4	-	-	Asie (Japon race 1) et Afrique	Dominant	(Ji et al. 2020)
<i>Xa46(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Chen et al. 2020)

Tableau 4. Gènes de résistance à *Xoo* (*R* et *E*) connus à ce jour.

Tableau adapté de (Chukwu et al. 2019).

Projet de thèse

Les plantes cultivées sont constamment confrontées à de multiples stress biotiques et abiotiques, représentant 17,2 à 30 % des pertes de rendement. Le riz (*Oryza sativa* L.) est l'une des cultures les plus répandues dans le monde et un aliment de base pour la plupart des populations des pays en développement (Ainsworth 2008). *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* représente depuis plusieurs décennies une menace majeure pour sa production en Asie et en Afrique (Liu et al. 2014). Comprendre les éléments qui déterminent l'interaction entre un pathogène et sa plante hôte est d'une importance cruciale pour le développement de stratégies de résistance durable.

L'élucidation du code régissant l'interaction TALE-ADN (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) a permis de grandes avancées dans notre compréhension des mécanismes de résistance et de sensibilité. La possibilité de prédire les cibles des TALE et leur capacité à induire des gènes cibles en font un atout majeur pour la recherche de sources de résistance (e.g. édition du promoteur de gènes *S*, identification de gènes *E*, etc) et l'amélioration des variétés. Les souches Africaines de *Xoo* diffèrent des souches Asiatiques, entre autres, par la taille de leur TALome et l'induction de résistances qui leur sont spécifiques. A ce jour, quatre gènes de résistance de type exécuteur (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*) induits par des TALE de *Xoo* ont été identifiés chez le riz, mais seules les souches Asiatiques de *Xoo* les induisent. Depuis quelques années des études concernant la caractérisation des sources de résistances chez le riz induites par les TALE de souches Africaines de *Xoo* ont été menés au sein de l'équipe que j'ai intégrée (Thèse M. HUTIN, 2015 ; équipe XPLAIN, UMR PHIM, IRD). Mes travaux de thèses se sont inscrits dans la continuité de ce projet, en poursuivant la caractérisation des quatre TALE d'avirulence candidats, TalF, TalI et, TalH et TalD, identifiés pour induire de la résistance sur les accessions de riz d'*O. sativa* suivantes : FKR47N, CT13432 et IR64, respectivement.

Caractérisation de nouvelles sources de résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

1. Criblage d'une banque de mutants Δtal : confirmation de l'activité d'avirulence d'effecteurs TAL candidats

Le premier chapitre de cette thèse a été dévoué à la caractérisation des effecteurs TAL africains candidats ayant une activité d'avirulence, dans le but de confirmer les résultats précédemment obtenus. Pour disséquer le rôle de chaque TALE, une stratégie de perte-de-fonction consistant à inactiver les gènes *tal* a été mise en place. Les mutants d'intérêt ont ensuite été inoculés sur les

variétés de riz correspondantes pour confirmer le rôle du ou des *tal* dans l'activité d'avirulence des souches Africaines de *Xoo*.

2. Approche de cartographie : identification de QTL de résistance aux souches Africaines chez IR64

Le deuxième chapitre porte sur la caractérisation de la résistance conférée par la variété IR64 contre les souches Africaines de *Xoo*. Pour cela, une approche de cartographie portant sur une population de lignées recombinantes (RIL) composée de 210 lignées de génération F₁₁ (provenant du croisement interspécifique entre IR64 et Azucena) a été utilisée, dans le but d'identifier les QTL de résistance mis en évidence par les souches Africaines de *Xoo*. Par la suite une deuxième population de lignées de génération F_{2:3} a été criblée pour rétrécir les zones QTL identifiées.

3. Identification de gènes exécuteurs candidats via une approche de RNA-seq

Suite aux résultats obtenus, une troisième stratégie, visant à étudier la réponse transcriptomique de la plante lors de l'infection par les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, a été menée sur les variétés de riz IR64 et Nipponbare (dont les génomes sont séquencés et annotés), respectivement résistante et sensible aux souches Africaines de *Xoo*. Au cours des chapitres précédents, l'activité d'avirulence de TalD chez IR64 ayant été démontrée, une comparaison de l'expression différentielle des gènes induits par MAI1 et BAI3 avec le mutant BAI3 Δ *talD* a été effectuée, permettant d'identifier de potentiels gènes *E* candidats expliquant la résistance TalD-dépendante de IR64.

Chapitre 1 : Identification d'effecteurs TAL ayant une activité d'avirulence dans les souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Contexte

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*) est l'agent causal bactériose vasculaire, une maladie dévastatrice du riz. Parmi les effecteurs de type 3 sécrétés par *Xoo* au sein de la cellule végétale, la famille des effecteurs "Transcription Activator-Like" (TALE) joue un rôle essentiel. Certains TALE sont des facteurs de virulence majeurs qui activent les gènes de sensibilité (*S*), dont la surexpression contribue au développement de la maladie. Dans certains cas l'incompatibilité avec l'hôte peut résulter de l'expression de gènes dits exécuteurs (*E*) induits par les TALE, entraînant une réponse de résistance forte et rapide qui bloque le développement de la maladie. Dans ce contexte, le TALE fonctionne comme un facteur d'avirulence (*Avr*). A ce jour, aucun facteur d'avirulence n'a été identifié dans les souches Africaines de *Xoo*. En regard de l'importance des effecteurs TAL dans le pathosystème Riz-*Xoo*, nous avons cherché à identifier ceux qui pourraient agir comme facteur d'avirulence chez des souches de *Xoo* Africaines.

Matériels & Méthodes

Une collection de 86 accessions de riz a été criblée dans le but d'identifier celles spécifiquement résistantes aux souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, et sensible à la souche Asiatique PXO99^A.

Par la suite, une approche de gain de fonction basée sur l'introduction de chacun des neuf gènes *tal* de la souche Africaine avirulente MAI1 dans la souche Asiatique virulente PXO99^A a été entreprise pour identifier des TALE avec une fonction d'avirulence. Une analyse mutationnelle de perte de fonction a ensuite été utilisée pour confirmer les TALE identifiés avec la précédente approche.

Résultats & Conclusions

Parmi les 86 accessions criblées, 12 ont été identifiées comme résistantes aux deux souches Africaines tout en étant sensibles à la souche Asiatique. Grâce aux approches de gain et perte de fonction, quatre TALE candidats ont été identifiés, et l'activité d'avirulence de deux d'entre eux, TalD et TalI, a été démontrée sur les variétés de riz IR64 et CT13432 respectivement. L'analyse des mécanismes qui sous-tendent la résistance de la variété de riz CT13432 a révélé l'existence de deux sources de résistance qui se chevauchent, notamment un allèle apparent du gène de résistance à large spectre *Xa1* et un gène *E* putatif non identifié qui est activé par TalI. En plus de CT13432, parmi les 12 accessions de riz qui étaient résistantes contre les souches de *Xoo* Africaines, 8 ont aussi montré un phénotype de résistance de type *Xa1*.

Perspectives

La combinaison d'analyses de transcriptome et des outils de prédiction de cibles dans le génome de CT13432 pourrait permettre la découverte future de ce gène. Cette approche serait également utile pour déchiffrer quels gènes chez IR64 confèrent une résistance contre les souches Africaines de *Xoo* comportant TalD.

Implication personnelle

Le criblage des 86 accessions avec les souches Africaines et Asiatique de *Xoo*, ainsi que l'approche de gain de fonction ont été réalisés par Mathilde Hutin au cours de sa thèse (2012-2015). Une partie de la collection des souches mutantes BAI3 Δ tal a été criblé par Mathilde H. lors de son post-doctorat, et une autre partie par moi-même au cours de cette thèse. Émilie Thomas a participé à la croissance et à la propagation du matériel végétal. J'ai effectué le reste des expériences.

1 **TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae***

2 Marlène Lachaux¹, Emilie Thomas¹, Adam J. Bogdanove², Boris Szurek^{1*} and Mathilde Hutin^{1*}

3 *Correspondence: boris.szurek@ird.fr; mathilde.hutin@ird.fr

4 ¹Plant Health Institute of Montpellier, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAe, Institut Agro, ,
5 Montpellier, France

6 ²Plant Pathology and Plant Microbe Biology Section, School of Integrative Plant Science, Cornell
7 University, Ithaca, NY, 14853 United States of America

8 **Abstract**

9 **Background:** *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) causes bacterial leaf blight, a devastating
10 disease of rice. Among the type-3 effectors secreted by *Xoo* to support pathogen virulence, the
11 Transcription Activator-Like Effector (TALE) family plays a critical role. Some TALEs are major
12 virulence factors that activate susceptibility (*S*) genes, overexpression of which contributes to
13 disease development. Host incompatibility can result from TALE-induced expression of so-called
14 executor (*E*) genes leading to a strong and rapid resistance response that blocks disease
15 development. In that context, the TALE functions as an avirulence (*Avr*) factor. To date no such
16 avirulence factors have been identified in African strains of *Xoo*.

17 **Results:** With respect to the importance of TALEs in the Rice-*Xoo* pathosystem, we aimed at
18 identifying those that may act as *Avr* factor within African *Xoo*. We screened 86 rice accessions, and
19 identified 12 that were resistant to two African strains while being susceptible to a well-studied
20 Asian strain. In a gain of function approach based on the introduction of each of the nine *tal* genes
21 of the avirulent African strain MAI1 into the virulent Asian strain PXO99^A, four were found to

22 trigger resistance on specific rice accessions. Loss-of-function mutational analysis further
23 demonstrated the *avr* activity of two of them, *talD* and *talI*, on the rice varieties IR64 and CT13432
24 respectively. Further analysis of TalI demonstrated the requirement of its activation domain for
25 triggering resistance in CT13432. Resistance in 9 of the 12 rice accessions that were resistant
26 against African *Xoo* specifically, including CT13432, could be suppressed or largely suppressed by
27 trans-expression of the truncTALE *tal2h*, similarly to resistance conferred by the *Xa1* gene which
28 recognizes TALEs generally independently of their activation domain.

29 **Conclusion:** We identified and characterized TalD and TalI as two African *Xoo* TALEs with
30 avirulence activity on IR64 and CT13432 respectively. Resistance of CT13432 against African *Xoo*
31 results from the combination of two mechanisms, one relying on the TalI-mediated induction of an
32 unknown executor gene and the other on an *Xa1*-like gene or allele.

33 **Keywords:**

34 Rice, bacterial leaf blight, truncTALE/iTALE, germplasm, executor gene, *Xa1*-like resistance

35 **Introduction**

36 Cultivated plants constantly face multiple abiotic and biotic stresses, the latter of which are
37 estimated to cause from 17 to 30% of global yield losses on five of the most important crops
38 including rice (Savary et al. 2019). Rice (*Oryza sativa L.*) is one of the most widely cultivated crops
39 around the world and a staple food for much of the developing world (Ainsworth 2008). A major
40 threat to rice production in Asia and Africa is bacterial leaf blight (BLB) caused by the bacterial
41 phytopathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*). BLB may indeed cause up to 50% of yield
42 loss depending on rice variety, growth stage of infection, geographic location and environmental
43 conditions (Liu et al. 2014). *Xoo* enters leaves through hydathodes or wounds. Bacteria then
44 multiply in the intercellular spaces of the underlying epitheme prior to reaching the xylem vessels
45 and propagating into the plant. BLB symptoms are water-soaked lesions that spread following the
46 bacteria's progression down the leaf and become chlorotic and then necrotic (Niño-Liu et al. 2006).

47 As do many pathogenic gram-negative bacteria, *Xoo* uses a type-3 secretion system (T3SS) to
48 secrete into the host cytoplasm a cocktail of type-3 effectors (T3E) that can be classified as
49 transcription activator-like (TAL) effectors and non-TAL effectors. While the latter include a
50 diverse array of effector families with various molecular activities, members of the TAL effector
51 (TALE) family function as eukaryotic transcription factors that bind in a sequence-specific manner
52 to the promoters of target genes in the host cells. Repeat-variable diresidues (RVDs) located at
53 positions 12th and 13th of each of several contiguous repeats in a central domain of TALEs
54 determine the DNA sequence binding specificity of the protein, one repeat to one nucleotide (Boch
55 et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). The target sequence, unique to each TALE, is called the
56 effector binding element (EBE). Some *Xoo* TALEs are major virulence factors, targeting
57 susceptibility (*S*) genes. Upregulation of *S* genes by TALEs contributes to disease development. *S*
58 genes characterized to date for BLB mainly encode clade-3 *SWEET* sugar uniporters that may
59 increase the abundance of apoplastic sugar to the benefit of the pathogen, or transcription factors

60 that regulate so far unknown secondary targets promoting host susceptibility (Garcia-Ruiz et al.
61 2021).

62 Forty-six genes, several dominant and some recessive, individually govern rice resistance against
63 *Xoo*. Twelve have been cloned and nine are TALE-dependent, reflecting the crucial role of TALEs
64 in the interaction (Jiang et al. 2020). Recessive resistance often involves mutations within the EBE
65 of an *S* gene to prevent the TALE-DNA interaction and consequent *S* gene induction. This is well
66 illustrated by the non-TALE-inducible *xa13*, *xa25* and *xa41* loss-of-susceptibility alleles of the
67 major *S* genes *OsSWEET11*, *OsSWEET13*, and *OsSWEET14*, respectively (Chu et al. 2006; Liu et
68 al. 2011; Hutin et al. 2015). Dominant resistance is often triggered by TALE-mediated induction of
69 so-called executor (*E*) genes, expression of which leads to rapid plant cell death that blocks disease
70 development (Boch et al. 2014). Four *E* genes, namely *Xa7*, *Xa10*, *Xa23*, *Xa27*, and their respective
71 matching *tal* genes, *avrXa7*, *avrXa10*, *avrXa23*, *avrXa27*, have been cloned and characterized
72 (Hopkins et al. 1992; Gu et al. 2005; Tian et al. 2014; Wang et al. 2014, 2015; Chen et al. 2021;
73 Luo et al. 2021). These *tal* genes are only present in Asian strains of *Xoo* and no *E* genes induced by
74 African *Xoo* TALEs have been identified to date. *E* genes so far code for small proteins with
75 transmembrane domains, and the molecular mechanisms underlying their function are still far from
76 being understood (Zhang et al. 2015; Chen et al. 2021). Another type of dominant resistance is
77 conferred by receptor-like kinases (RLK), such as *Xa3/Xa26* (Sun et al. 2004; Xiang et al.
78 2006) and *Xa21* (Song et al. 1995), but also *Xa4* which encodes a cell wall-associated kinase (Hu et
79 al. 2017). Finally, the last category are genes encoding nucleotide-binding domain leucine-rich
80 repeat containing receptors (NLR) such as *Xa1* and its apparent alleles *Xo1*, *Xa2*, *Xa14*, *Xa31(t)* and
81 *Xa45(t)* (Ji et al. 2020; Read et al. 2020; Zhang et al. 2020). We consider the latter genes “apparent”
82 alleles because *Xo1* resides in a cluster of NLR genes, the number of which varies among rice
83 genotypes, making orthology uncertain. *Xa1* and *Xo1* were shown to mediate resistance in response
84 to TALEs generally, independently of their specific RVD sequence, and with no requirement for the

85 transcriptional activation domain (Ji et al. 2016; Triplett et al. 2016; Read et al. 2020). A variant
86 class of TALEs called interfering (iTALE) or truncated (truncTALE) TALEs suppress *Xa1/Xo1*-
87 mediated resistance, and the truncTALE Tal2h has been demonstrated to interact with Xo1 (Ji et al.
88 2016; Read et al. 2016, 2020). Whether this interaction is direct, and whether Xo1 interacts with
89 TALEs to mediate resistance remains to be elucidated. Analysis of functional apparent alleles of
90 *Xa1* and *Xo1* highlight the absence of an intervening motif present in non-functional alleles, and
91 differences in the number (4 to 7) of central tandem repeats that might explain differences in their
92 activity (Zhang et al. 2020). Interestingly, most Asian strains of *Xoo* harbor iTALEs/truncTALEs
93 while African strains do not, explaining why African strains are widely controlled by *Xa1*, *Xo1* or
94 functional homologs (Ji et al. 2016; Read et al. 2016, 2020).

95 Previous studies demonstrated that African *Xoo* are genetically distant from Asian *Xoo* and closer to
96 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) (Poulin et al. 2015), which causes bacterial leaf streak
97 (BLS). A characteristic feature of African *Xoo* is their small TALome (set of *tal* genes) consisting
98 of 8-9 genes, relative to Asian *Xoo* which carry up to 19 *tal* genes. Moreover, no TALE is
99 conserved between Asian and African strains (Lang et al. 2019). Comparative analysis of the
100 TALome of several African strains revealed six groups of polymorphic TALEs based on their RVD
101 sequences, including TalA, TalB, TalD, TalF, TalH, and TalI (Doucouré et al. 2018; Tran et al.
102 2018). African *Xoo* are also distinguished by a reduced number of races as compared to Asian *Xoo*
103 (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020). Race profiling on near isogenic lines (NILs) reported the
104 potential of *Xa4*, *xa5* and *Xa7* or co-segregating genes to control a few African *Xoo* from Burkina
105 Faso, Niger, and Cameroon (Gonzalez et al. 2007), but the resistance spectrum of these genes has
106 yet to be evaluated on a larger set of strains. Furthermore, *Xa1* comes up as one of the most
107 promising *R* genes in terms of resistance spectrum for the Malian *Xoo* population (Tekete et al.
108 2020). Other studies to identify resistance against African *Xoo* evaluated 107 accessions of *O.*
109 *glaberrima*, the cultivated rice species domesticated in Africa, as well as improved varieties

110 including NERICA (NEw RICE for Africa) (Djedatin et al. 2011; Wonni et al. 2016). NERICA
111 varieties are often the result of the inter-specific crosses between *O. glaberrima*, which represents
112 important germplasm for resistance to local biotic and abiotic stresses, and high-yielding Asian *O.*
113 *sativa*. These studies identified 25 accessions of *O. glaberrima* that are resistant to one or more
114 African strains of *Xoo*, and five Burkinabe elite rice varieties (Djedatin et al. 2011; Wonni et al.
115 2016). Genes or quantitative trait loci accounting for resistance in these varieties remain to be
116 explored.

117 In this study, toward providing breeders with new resistance genes against African *Xoo*, we
118 screened 86 rice accessions including 16 accessions tested previously (Djedatin et al. 2011; Wonni
119 et al. 2016) for resistance to two reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively
120 originating from Mali and Burkina Faso. We included the Asian strain PXO99^A for comparison. For
121 select accessions, we probed with individual TALEs from the African strains expressed in PXO99^A
122 to identify potential *E* or other TALE-dependent resistance genes. We report on the identification of
123 12 accessions showing resistance to both African strains, nine of which involving an *Xa1*-like
124 immunity, and unveil two TALEs with avirulence activity in African *Xoo*. Interestingly, our
125 approach unmasked the occurrence of two overlapping TALE-mediated sources of resistance in the
126 rice variety CT13432, one involving *Xa1*-like activity and the other a so far unknown TALE-
127 dependent *E* gene.

Name	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99 ^A °	*Candidate avirulence TALEs
Og_107	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S	-
Og_162	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S	-
WAB56-50	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
WAB181-18	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
FKR19	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
FKR43	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
IR64	<i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>	R	MR	S	TalD, TalH
CT13432	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	TalI
Gigante	<i>O. sativa</i>	R	R	S	-
FKR45N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	-
FKR47N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	TalF
FKR49N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	-

Table 1. Four African TALEs mediate resistance when expressed in PXO99^A on resistant varieties.

°Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after inoculation.

Resistant (R), $x < 5$ cm; moderately resistant (MR), $5 \text{ cm} < x < 10$ cm; moderately susceptible (MS), $10 \text{ cm} < x < 15$ cm; susceptible (S), $x > 15$ cm.

*Rice accessions were inoculated with PXO99^A carrying each of the nine *tal* genes of MAI1. (-) means no candidate avirulence TALE identified.

128 **Results**

129 **Germplasm screening for TALE-dependent resistance against African *Xoo* uncovers three** 130 **resistant rice varieties**

131 To search for African *Xoo* *tales* with *avr* activity, we established a gain-of-function approach
132 consisting in the trans-expression of these *tal* genes in a virulent recipient strain of *Xoo*. We first
133 screened a germplasm of 86 accessions of rice and selected those that were susceptible to the Asian
134 *Xoo* strain PXO99^A and resistant to the reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3. Twelve
135 accessions exhibited that phenotype, including two *O. glaberrima*, seven *O. sativa* (two *indica* and
136 one *japonica*), and three elite varieties that are popular in West-Africa (Table S1). To investigate
137 whether the resistance of these 12 accessions to African *Xoo* is triggered by TALEs, each of the
138 nine *tal* genes of the *Xoo* strain MAI1 was introduced into the virulent strain PXO99^A. The
139 expression in PXO99^A of each TALE was confirmed by Western blot (Fig. S1). Each PXO99^A
140 transformant carrying an *Xoo* MAI1 *tal* gene was inoculated to the 12 accessions and to the rice
141 variety Azucena, which was used as susceptible check. No significant difference in lesion lengths
142 was observed upon leaf-clip inoculation of Azucena leaves with the different transformants 15 days
143 after inoculation. In contrast, the varieties CT13432 and FKR47N exhibited resistance when
144 inoculated with PXO99^A transformants carrying *talI* and *talF*, respectively. In addition, PXO99^A
145 strains with *talD* or *talH* both elicited resistance when inoculated to the *O. sativa* ssp. *indica* variety
146 IR64. Overall, four TALEs with avirulence activity and three rice accessions with TAL-dependent
147 resistance were pinpointed through this gain-of-function strategy (Table 1).

148 ***tal* genes mutagenesis confirms *talD* avirulence activity in IR64**

149 To confirm that *talD*, *talH*, *talI* and *talF* act as avirulence genes in strain MAI1, we attempted to
150 generate a library of MAI1 *tal* gene mutants by transformation of the suicide plasmid pSM7 as
151 reported previously (Cernadas et al. 2014; Tran et al. 2018). Because MAI1 turned out to be poorly
152 amenable to genetic transformation, we focused on the *Xoo* strain BAI3, which has a similar

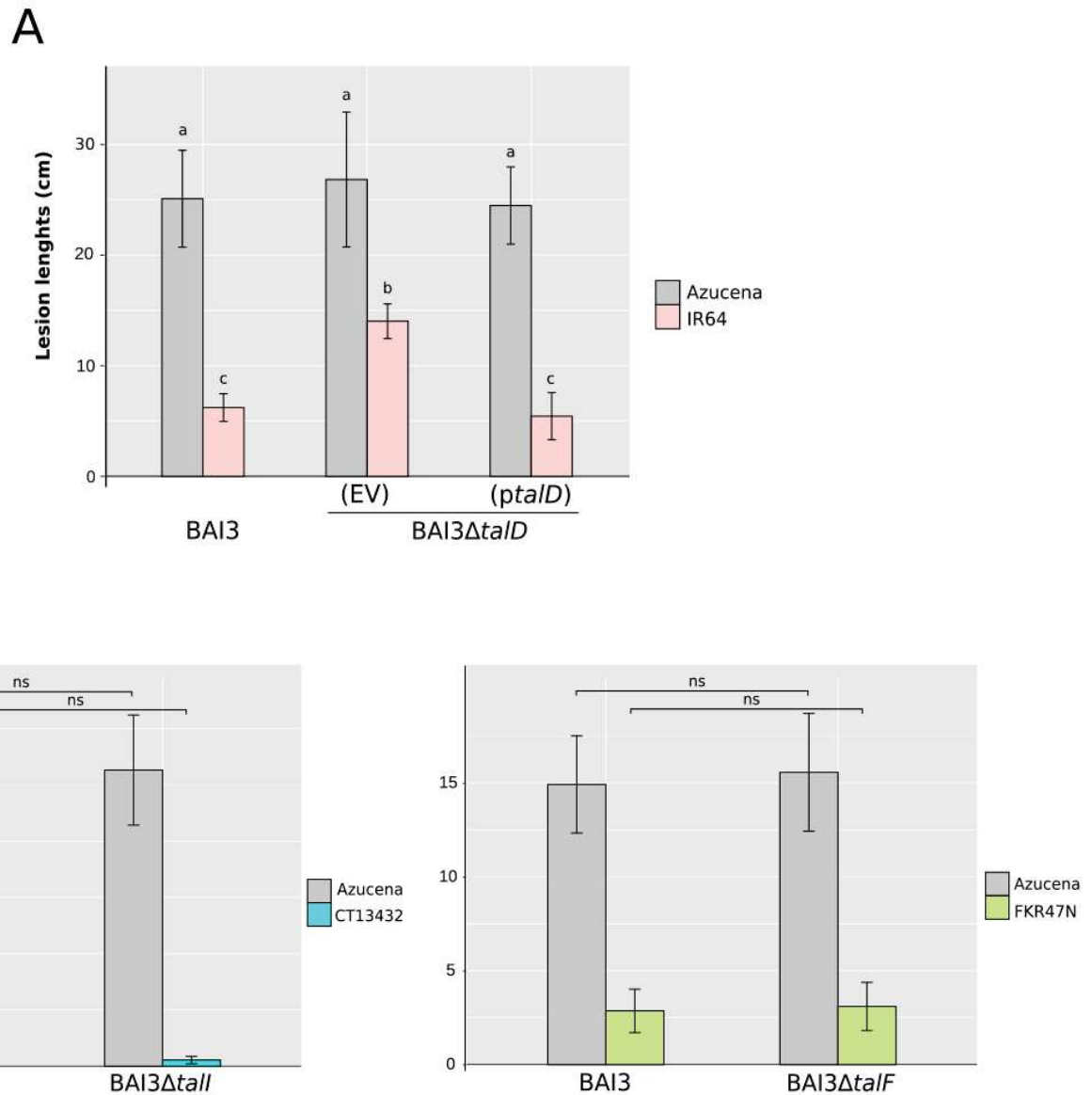


Figure 1. *BAI3ΔtalD* loses avirulence on IR64 but *BAI3ΔtalI* and *BAI3ΔtalF* do not on CT13432 and FKR47N.

(A) Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and *BAI3ΔtalD* carrying an empty vector (EV) or a plasmid with *talD* (*ptaID*). To assess significance, the parametric test ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different. (B) Leaves of rice varieties CT13432, and FKR47N were clip-inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 and with mutant strains *BAI3ΔtalI* and *BAI3ΔtalF*, respectively. Azucena was included for all strains as a susceptible check. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm SD. Significant differences ($p < 0.001$) were determined using an unpaired two-sample t-test; bars with « ns » are not statistically different. Experiments were repeated three times with similar results.

153 TALome (Tran et al. 2018). We obtained at least one mutant strain with a single insertion for each
154 *tal* gene, except for *talH* (Fig. S2). Alongside wild-type (WT) BAI3, mutant strains BAI3 Δ *talI*,
155 BAI3 Δ *talF* and BAI3 Δ *talD* were inoculated to CT13432, FKR47N and IR64, respectively, and to
156 the Azucena susceptible control. Both leaf-clip inoculation and leaf-infiltration of the three
157 BAI3 Δ *tal* mutants produced WT-like symptoms on Azucena, indicating that virulence of these
158 mutant strains was not affected (Fig. 1; Fig. S3). In contrast, an increase of lesion lengths was
159 observed upon clip-inoculation of leaves of IR64 with BAI3 Δ *talD*. Avirulence was fully restored
160 when a plasmid-borne copy of *talD* was introduced into BAI3 Δ *talD* (Fig. 1A), demonstrating the
161 avirulence activity of *talD* in IR64. In contrast, no loss of resistance was observed upon leaf-
162 infiltration or leaf-clipping of CT13432 and FKR47N with *talI* or *talF* mutant strains, respectively
163 (Fig. S3, Fig. 1B), leading to the hypothesis that one or more other *avr* activities, corresponding to
164 one or more other *R* genes, may be masking those of *talI* and *talF*.

165 **CT13432 and FKR47N exhibit *Xa1*-like resistance**

166 When leaves of CT13432 and FKR47N were infiltrated with BAI3, an early and strong
167 hypersensitive response (HR) apparent as rapidly developing necrosis could be observed at the site
168 of inoculation (Fig. S3). *Xa1/Xo1* being able to confer resistance against African strains of *Xoo* and
169 *Xoc* specifically (Ji et al. 2016; Triplett et al. 2016), and among the *Xa* genes that trigger an early
170 and strong HR-like phenotype upon *Xoo* leaf-infiltration, we hypothesized that some *Xa1/Xo1*-like
171 mechanism may be at play in the BAI3-CT13432/FKR47N interactions, redundant to the *talI* and
172 *talF*-specific resistances observed in the gain-of-function experiments. To test this hypothesis we
173 infiltrated the Asian *Xoc* strain BLS256 which carries the truncTALE *tal2h*, and the derivative
174 mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, into leaves of CT13432, FKR47N and the susceptible control
175 Azucena (Fig. 2). As expected, all strains promoted water-soaking symptoms upon infiltration of
176 the susceptible variety Azucena. Typical BLS symptoms were observed when leaves of CT13432
177 and FKR47N were infiltrated with *Xoc* strain BLS256, while a strong resistance phenotype

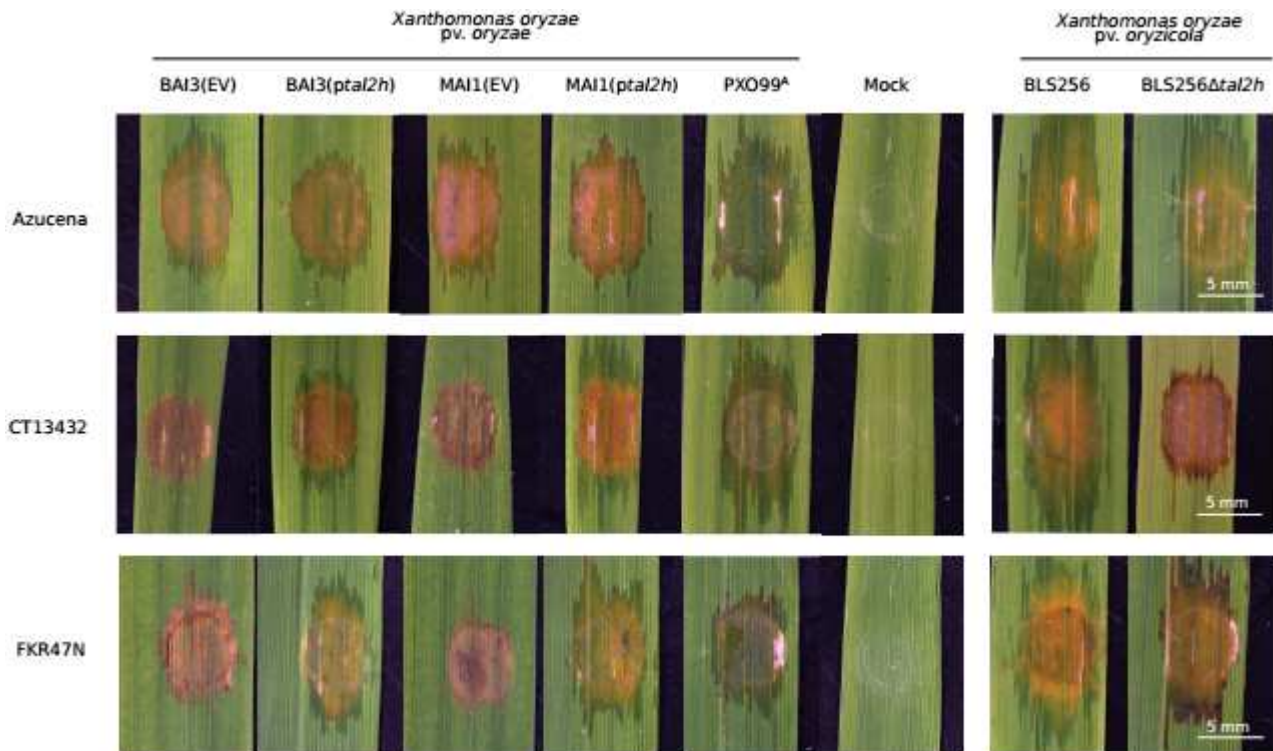


Figure 2. The resistance of CT13432 and FKR47N against African *Xoo* is largely suppressed by a truncTALE.

Leaves of CT13432 and FKR47N rice varieties were inoculated with *Xoo* strains BAI3 and MAI1 carrying an empty vector (EV) or the truncTALE *tal2h* as well as *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) strain BLS256 which is naturally carrying *tal2h* and the mutant strain BLS256Δ*tal2h*. The susceptible rice variety Azucena and the Asian *Xoo* strain PXO99^A were used as controls. Leaves were photographed at 5 dpi.

178 appeared upon infiltration of the truncTALE derivative mutant BLS256 Δ *tal2h*, indicating that
179 CT13432 and FKR47N have *Xa1/Xo1*-like activity. To further confirm that the resistance of these
180 varieties against *Xoo* strains BAI3 and MAI1 is conferred in part by an *Xa1*-like gene, both strains
181 were transformed with *tal2h* and pathogenicity assays were performed. As expected, expression of
182 the truncTALE in BAI3 and MAI1 resulted in a complete loss of HR on CT13432 and FKR47N,
183 which was not the case when the strains carried an empty vector (Fig. 2). Altogether, our results
184 suggest that African *Xoo* resistance in CT13432 and FKR47N is mediated by *Xa1* or other alleles,
185 in addition to as yet unidentified resistance genes corresponding to *talI* and *talF*.

186 To test whether any of the ten remaining resistant accessions involve similar mechanisms, 3-week-
187 old plants were inoculated by infiltration and checked for appearance of the HR. As expected,
188 Carolina Gold Select and IRBB1, carrying respectively *Xo1* and *Xa1*, displayed water-soaking
189 lesions when infiltrated with the Asian *Xoc* strain BLS256, and HR when infiltrated with the
190 African *Xoo* strain BAI3 and the truncTALE derivative mutant BLS256 Δ *tal2h* (Fig. S4).
191 Surprisingly, seven out of the eight *O. sativa* spp. accessions also exhibited a typical *Xa1*-like HR to
192 BAI3 and BLS256 Δ *tal2h* while being susceptible to BLS256 (and to PXO99^A, which also carries
193 iTALEs). The two *O. glaberrima* accessions exhibited no *Xa1*-like resistance, developing water-
194 soaking in response to BAI3 or BLS256 Δ *tal2h* following leaf infiltration (Fig. S4, Table S2).
195 Overall, these observations show that 9 of the 12 resistant varieties including CT13432 and
196 FKR47N resist African *Xoo* through *Xa1/Xo1*-like mechanisms.

197 **Presence of *Xa1* allelic *R* genes in CT13432 and FKR47N rice varieties**

198 To test the prediction that an *Xa1* allele was present in CT13432 and FKR47N, we PCR-amplified a
199 202 bp fragment spanning the junction of the first repeat and its up-stream region (Ji et al. 2020);
200 Table S3), allowing the discrimination of resistant and susceptible alleles (susceptible alleles yield
201 no product). Analysis was performed also on the *Xa1*-carrying near-isogenic line IRBB1 and the

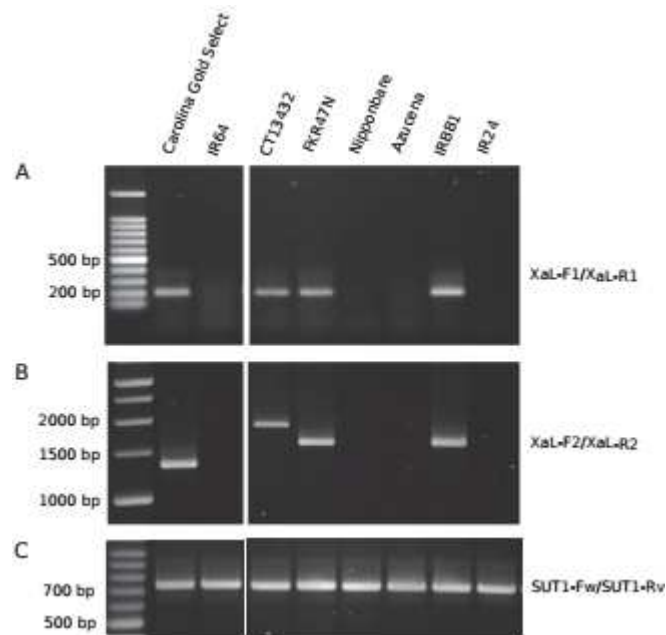


Figure 3. The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of *Xa1*.

The genomic DNA of rice varieties Carolina Gold Select, IR64, CT13432, FKR47N, Nipponbare, Azucena, IRBB1 and IR24 were used as a template for PCR amplification of (A) the junction of the first repeat of 279 base pairs of *Xa1* and its upstream region, (B) the whole repeat region of *Xa1* and alleles, and (C) the housekeeping gene *OsSUT1* used as a control. All the samples were run on the same gel.

202 *Xo1*-carrying Carolina Gold Select rice variety as positive controls, and on Azucena, Nipponbare,
203 IR24 and IR64 as negative controls (Fig. S4). Both CT13432 and FKR47N yielded a product that
204 co-migrated with those of the positive controls (Fig. 3A). No amplification was evident from the
205 negative control varieties. We next tried to determine the number of leucine-rich repeats (LRRs)
206 encoded by the CT13432 and FKR47N alleles by amplifying the LRR domain. As expected, IRBB1
207 and Carolina Gold yielded products of sizes consistent with the six and five LRRs of *Xa1* and *Xo1*,
208 respectively. CT13432 and FKR47N produced amplicons of sizes consistent with the presence of
209 seven and six LRRs, respectively (Fig. 3B). Altogether, these results provide strong evidence that
210 CT13432 and FKR47N varieties each carry a different allele of the *Xa1 R* gene that is active against
211 African *Xoo* strains MAI1 and BAI3.

212 **Suppression of the *Xa1*-like resistance in CT13432 unmasks an underlying *TalI* activation** 213 **domain-dependent resistance**

214 We hypothesized that the *Xa1*-like resistance in CT13432 and FKR47N explains the failure of the
215 *talI* and *talF* knockouts in BAI3 to abolish avirulence of the mutants, respectively, on these
216 varieties (Fig. 1A). To test this hypothesis directly, we first introduced a plasmid-borne copy of
217 *tal2h* into BAI3 and inoculated to CT13432 and the susceptible variety Azucena. The presence of
218 *tal2h* indeed suppressed the *Xa1*-like resistance to BAI3 in CT13432, resulting in moderate disease
219 symptoms development (Fig. 4A), and higher bacterial titers *in planta* (Fig. 4B) as compared with a
220 BAI3 empty vector control. We next tested whether the combination of *tal2h*-mediated *Xa1*-like
221 suppression and *talI* inactivation would lead to even higher virulence on CT13432 by introducing
222 *tal2h* (or the empty vector) into BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*). No significant differences in lesion lengths or
223 bacterial populations were observed between BAI3(*ptal2h*) and BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*)(EV). However,
224 expression of *talI*_{BAI3} in trans in BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*) dramatically reduced lesion lengths and bacterial
225 titer *in planta*, relative to the empty vector in BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*). These results demonstrate that
226 *talI*_{BAI3} *avr* activity in CT13432 can be detected when *Xa1* is inactivated. We next evaluated if

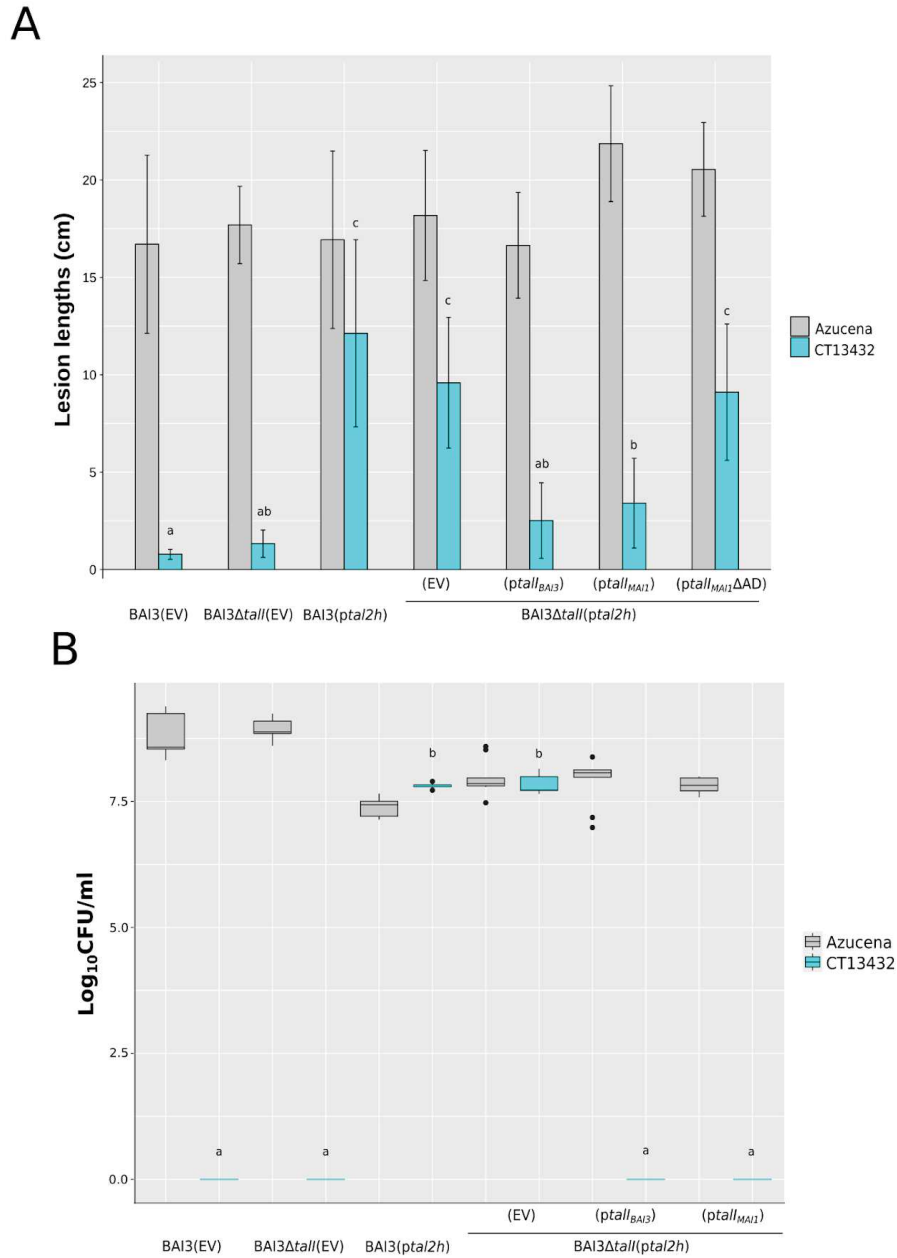


Figure 4. Suppression of Xa1-like resistance unmasks *TalI* avirulence activity in the rice variety CT13432. (A) Leaves of CT13432 and Azucena plants were clip-inoculated with the *Xoo* strain BAI3 carrying the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3Δ*talI* mutant carrying the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3 strain expressing the *tal2h* truncTALE, and BAI3Δ*talI* expressing *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3}, *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1}ΔAD. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. (B) Bacterial counts were taken 7 dpi of rice leaves of CT13432 and Azucena inoculated with the same panel of *Xoo* strains used in (A). Statistical tests in both experiments were carried out in R using the nonparametric Kruskal-Wallis and Dunn's tests ($\alpha = 0.05$). Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different.

227 restoration of avirulence could also be obtained upon expression of *tall_{MAI1}* which is polymorphic at
228 RVDs 4 and 9 (Tran et al. 2018). As with *tall_{BAI3}*, expression of *tall_{MAI1}* lead to reduced lesion
229 lengths and *in planta* bacterial amounts, indicating that both *tall* variants confer avirulence on
230 CT13432 (Fig. 4). We next evaluated the requirement of the activation domain (AD) in the *tall*-
231 specific resistance. BAI3 Δ *tall*(*ptal2h*) transformed with the deletion derivative construct
232 *ptall_{MAI1}* Δ AD failed to trigger resistance in CT13432 while it remained fully virulent on the
233 susceptible variety Azucena (Fig. 4A). Western-blot analysis verified that TalI_{MAI1} and TalI_{MAI1} Δ AD
234 accumulate at comparable levels (Fig. S5). Altogether our results show that the TalI specifically
235 elicits a form of resistance distinct from the Xa1-like resistance in CT13432 and that this elicitation
236 relies on the activation domain of TalI, suggesting the presence of a TalI-activated *E* gene. Further
237 analysis will be necessary to elucidate whether the same is true for *talF*-mediated resistance in
238 FKR47N.

239 Discussion

240 First identified in Japan in 1884, BLB has been long recognized as a major threat in many Asian
241 countries, and therefore for decades at the heart of many research and resistance breeding programs
242 (Liu et al. 2014). To date, a handful of avirulence genes have been cloned from Asian *Xoo* strains,
243 all of which encode TAL effectors including *avrXa7*, *avrXa10*, *avrXa23*, and *avrXa27* (Hopkins et
244 al. 1992; Gu et al. 2005; Wang et al. 2014). In contrast, no avirulence gene has been identified in
245 African *Xoo* strains, the first of which were isolated in the 1980s. However, as many as nine races
246 of African strains, not found among Asian strains, have been reported so far (Gonzalez et al. 2007;
247 Tekete et al. 2020), indicating that some effector genes of African *Xoo* strains act as avirulence
248 factors in gene-for-gene interactions with some rice *R* genes. Comparison between African and
249 Asian *Xoo* TALomes shows that no *tal* gene is conserved between these two *Xoo* lineages (Lang et
250 al. 2019). Strains of both lineages induce the *S* genes *OsSWEET14* and *OsTFX1* through unrelated
251 TALEs, highlighting cases of inter-lineage evolutionary convergence of virulence functions

252 (Streubel et al. 2013; Tran et al. 2018). In contrast, none of the rice *E* genes induced by Asian *Xoo*
253 is predicted to be targeted by any African *Xoo* TALE. Here, toward identifying sources of resistance
254 effective against African *Xoo* strains, we assessed the putative *avr* activity of 12 previously cloned
255 individual *tal* genes representing the TALome of two African *Xoo* strains (Tran et al. 2018), using a
256 large set of rice accessions.

257 To accomplish this goal, we first took a gain-of-function approach using the virulent Asian *Xoo*
258 strain PXO99^A as a recipient to express cloned African *tal* genes. In a similar approach, we
259 previously identified major virulence TALEs of African *Xoo* strains using the US strain *Xo* X11-5A
260 as recipient (Tran et al. 2018). X11-5A lacks *tal* genes and is weakly virulent, allowing for gain-of-
261 virulence screening (Ryba-White et al. 1995; Triplett et al. 2011). Nonetheless in a search for gain-
262 of-avirulence, the use of a more virulent strain is required. By selecting the Asian strain PXO99^A as
263 recipient, we also minimized the risk of TALE functional redundancy. This strategy led to the
264 identification of *talI* and *talF* respectively causing resistance in rice varieties CT13432 and
265 FKR47N, as well as *talD* and *talH*, each triggering resistance on IR64.

266 In a complementary approach, a loss-of-function analysis was carried out by mutagenizing
267 individual *tal* genes in the African *Xoo* strain BAI3. This analysis validated *talD* and *talI* as
268 avirulence genes; a mutant for *talH* was not obtained. Because IR64 has been sequenced and
269 recombinant populations are available, (Fragoso et al. 2017) prospects for future identification of
270 the gene(s) underlying the TalD-elicited resistance are good. Mutagenesis of *talI* or *talF* failed to
271 cause a measurable loss of avirulence in the respective rice varieties CT13432 and FKR47N.
272 However, *talI* avirulence activity was evident upon trans-expression of the truncTALE *tal2h* in
273 BAI3 Δ *talI*, revealing that a resistance like that mediated by Xa1, in response to TALEs generally
274 and suppressed by truncTALEs, is present in CT13432 and masking the TalI-specific resistance. By
275 further taking advantage of this combined gain- and loss-of-function approach, we also determined

276 that the TalI-specific resistance depends on the activation domain of the effector and thus likely
277 involves an *E* gene.

278 While four TALE groups including TalG, TalE, TalD and TalC are strictly conserved between *Xoo*
279 strains MAI1 and BAI3, two to six RVD variations were reported in the five other groups,
280 modifying to some extent their DNA binding sequence specificities (Tran et al. 2018). Notably,
281 three of the four candidate or validated avirulence TALEs identified in this study, TalI, TalF, and
282 TalH all present RVD polymorphisms across Malian and Burkinabe strains, which could be the
283 result of some ongoing selection pressure imposed by corresponding *E* or other resistance genes
284 (Doucouré et al. 2018; Schandry et al. 2018). Surprisingly, the TalD group is much more conserved,
285 highlighted by an absolute RVD conservation between BAI3, MAI1 and the Cameroonian strain
286 CFBP1947 (Tran et al. 2018), and only one polymorphic RVD among nine Malian strains
287 investigated (Doucouré et al. 2018). According to the EBE prediction tools Target Finder and Talvez
288 (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), 90% of the first 20 predicted targets of the two
289 versions of TalD are conserved. Such a conservation among strains hints to an important role in
290 virulence for TalD, but there are no data supporting this hypothesis so far. Concerning the TalI
291 group, BAI3 and MAI1 alleles differ at two RVDs and share about 32% of their predicted targets,
292 querying the Nipponbare genome. Since both variants equally elicit resistance in the rice variety
293 CT13432, their polymorphism may confer an advantage in future identification of the putative
294 corresponding *E* gene; the gene is likely to reside among the relatively smaller number of predicted
295 targets in that genome that are shared by the two alleles.

296 Up to now 12 *R* genes against BLB have been cloned, of which 9 are triggered by TALEs (Jiang et
297 al. 2020; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). This proportion not only highlights the crucial role of
298 this effector family in the rice-*Xoo* pathosystem but also the relevance of using TALEs as probes to
299 identify resistance sources and clone the underlying genes. This quest is facilitated by the ability to

300 identify candidate targets of TALEs by combining EBE prediction and expression analysis, owing
301 to the modular nature of TALE DNA interactions and their strong transcriptional upregulation of
302 targets (Boch et al. 2014). In a proof-of-concept study pioneering this strategy for *E* gene
303 identification, Strauss et al (2012) identified the pepper *Bs4C* gene, which is specifically induced by
304 the TALE AvrBs4 from *X. euvesicatoria*. More recently, a mix of map-based cloning and EBE
305 predictions led to the isolation of the *E* gene *Xa7* in rice, which is triggered by the *Xoo* TALE
306 AvrXa7 (Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). In our study, out of the 86 accessions phenotyped, 12
307 were found to be resistant to both African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, including 7 accessions of *O.*
308 *sativa*, 2 of *O. glaberrima* and 3 NERICAs. Moreover, 12 *O. glaberrima*, 3 *O. sativa*, 3 *O. barthii*
309 and 2 NERICA accessions were discovered to be resistant specifically to the Malian strain MAI1.

310 Among the 12 accessions identified as resistant to *Xoo* African strains MAI1 and BAI3, 9
311 accessions, including CT13432 and FKR47N, showed a phenotype typical of *Xa1* resistance (Table
312 S2; Fig. S4). This is not surprising since *Xa1* and its functional homologs exhibit broad-spectrum
313 resistance against African *Xoo* specifically, owing to the lack of iTALEs in examined African *Xoo*
314 strains (Ji et al. 2016; Read et al.;2016). The *Xa1* allele that we discovered in the rice variety
315 CT13432 appears to contain seven LRRs, like the allele originally identified as *Xa45(t)*, which was
316 cloned from the wild rice variety *Oryza nivara-1* (Ji et al. 2020). Other alleles reported to date
317 contain 4 (*Xa14*), 5 (*Xa2* and *Xo1*), and 6 repeats (*Xa1*). Variety FKR47N contains an allele that
318 appears to have 6 LRRs. FKR47N, also called NERICA 17, is the result of crossing *O. glaberrima*
319 variety CG14 and *O. sativa* ssp. *japonica* variety WAB181-18, backcrossing to WAB181-18 as
320 recurrent parent. *Xa1* alleles have been reported in other NERICAs. Alleles in NERICAs 5 and 7,
321 the recurrent parent of which is the *O. sativa* ssp. *japonica* rice variety WAB56-104, have five and
322 six LRRs respectively. NERICAs 12 and 14, coming from the *O. sativa* ssp. *japonica* rice variety
323 WAB56-50, each carry an allele with five LRRs (Ji et al. 2020). According to Ji et al. (2020), a
324 search for *Xa1* allelic members in the 3000 rice genomes revealed that approximately 15% contain

325 the *Xa1* signature sequence. A phenotypic screening for *Xa1*-like resistance in 87 rice accessions
326 revealed its in 16, including different rice species such as *O. glaberrima*, *O. nivara* and *O. sativa* (Ji
327 et al. 2020). A complementary study on more than 500 *O. sativa* accessions revealed that *Xa1*
328 alleles were present in *aus*, *indica*, temperate and tropical *japonica* (Zhang et al. 2020). The
329 frequency of *Xa1* alleles among diverse rice varieties and the variability of LRRs number among
330 *Xa1* alleles observed in these studies and revealed further by our results, underscores the
331 unanswered question of the origin of the gene and the drivers of its diversification.

332 BLB represents a serious threat to rice production in Africa. Varietal resistance is the best strategy
333 to control BLB durably, but it requires sources of resistance effective against the local pathogen
334 genotypes. So far, no African strain of *Xoo* with iTALE/truncTALE has been identified, which
335 makes *Xa1* and its alleles promising tools to control BLB in Africa. Although the durability of *Xa1*
336 in Africa is difficult to predict, the risk of emergence of strains of *Xoo* originating from Asia and
337 their spread through the African continent seems high in the current context of intense global
338 exchanges of rice germplasm and insufficient phytosanitary measures. Pyramiding of resistance
339 genes against BLB is of great value to extend the durability and the spectrum of resistance within a
340 rice variety (Oliva et al. 2019). CT13432 combines several rice blast resistance genes (Pi1, Pi2 and
341 Pi33) (Tharreau et al. 2007; Utami et al. 2011), but here we found out that it also carries at least
342 two, distinct types of resistance to BLB, an apparent *Xa1* allele and a putative, Tall-dependent *E*
343 gene, making it an excellent material for breeding to create improved varieties for Africa. What is
344 more, we expect that the CT13432 might also carry yet another blast resistance gene, *Pi63*, which
345 resides at the same locus as *Xo1* in Carolina Gold Select (Read et al. 2020).

346 **Conclusions**

347 In this study, we identified 12 rice accessions exhibiting resistance against African strains of *Xoo*
348 and described 4 TAL effectors from these strains that exhibit avirulence activity. Analysis of the

349 mechanisms underlying the resistance of the rice variety CT13432 revealed the occurrence of two
350 overlapping sources of resistance including an apparent allele of the broad-spectrum resistance gene
351 *Xa1* and an unidentified putative *E* gene that is activated by TalI. Combining transcriptomics and
352 EBE prediction tools in the genome of CT13432 may allow discovery of this gene in the future.
353 This approach would also be useful to decipher what genes in IR64 confer resistance against strains
354 of *Xoo* with TalD.

355 **Material and Methods**

356 **Bacterial Strains and Growth Conditions**

357 Bacterial strains used in this study are listed in Table S4. *Escherichia coli* was cultivated at 37°C in
358 liquid or solid (15 g agar per L) Luria-Bertani (LB) medium (10 g of tryptone, 5 g of yeast extract,
359 and 5 g of NaCl per L of distilled water), and *Xanthomonas oryzae* pathovars at 28°C in liquid or
360 solid (16 g agar per L) peptone sucrose medium (10 g of peptone, 10 g of sucrose, and 1 g of
361 glutamic acid per L of distilled water).

362 **Plant Materials and Plant Inoculations**

363 The rice accessions screened in this study are listed in Table S1. Plants used were grown in a
364 greenhouse under cycles of 12h of light at 28°C with 80% relative humidity (RH) and 12h of dark
365 at 25°C with 70% RH. When used for bacterial quantification assays, plants were grown in a
366 growth chamber at 28°C and 80% RH (day and night). For lesion length assays, leaves of 5-week-
367 old plants were inoculated by leaf-clipping with a bacterial suspension at an optical density at 600
368 nm (OD_{600}) of 0.2. Lesion lengths were measured 15 days post inoculation (dpi) on at least eight
369 leaves from individual plants per experiment. Leaves of 3-week-old plants were infiltrated with a
370 needleless syringe and a bacterial suspension at an OD_{600} of 0.5. Symptoms were photographed at 5
371 dpi. For bacterial quantification assay, 5-week-old plants were inoculated by leaf-clipping and 10

372 cm distal leaf fragments of three leaves from three individual plants per condition were cut in half
373 and ground in liquid nitrogen separately as reported previously (Yu et al. 2011).

374 **Plasmid Transformation**

375 Plasmids were introduced into *E. coli* cells by heat-shock transformation and into *Xoo* by
376 electroporation or triparental mating (Figurski and Helinski 1979). Appropriate antibiotics for
377 selection were added to growth media at the following final concentrations: rifampicin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$
378 ¹; gentamicin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$; tetracycline, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$; kanamycin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$.

379 *tal* genes of the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 are cloned in pSKX1, which confers
380 gentamicin resistance (Tran et al., 2018; Table S4). The truncTALE *tal2h* is cloned in pKEB31,
381 which confers tetracycline resistance (Read et al. 2016; Table S4). The plasmids are compatible
382 with each other.

383 **Mutant library construction and characterization**

384 The BAI3 Δtal mutants were generated upon electroporation of the wild-type strain BAI3 with the
385 suicide plasmid pSM7 (Cernadas et al. 2014). Mutant strains were selected with kanamycin at 100
386 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. The mutant library was characterized by Southern blot analysis. Extraction of *Xoo*
387 genomic DNA (gDNA) was performed using the Wizard Genomic DNA Purification kit
388 (Promega[®]). Four micrograms of gDNA were digested by *Bam*HI-HF (New England Biolabs) at
389 37°C overnight. The digested DNA was separated in a 1 % agarose gel at 50 Volts for 72 hours at
390 4°C and transferred to a nylon membrane (Roche[®]) overnight. Hybridization was conducted
391 according to the procedures described in the DIG High Prime DNA Labeling and Detection Starter
392 kit II protocol (Roche[®]), using a 725-bp C-terminal *TalC*_{MAI1} amplicon as probe (Yu et al. 2011).

393 **Construction of *talI* activation domain mutant**

394 The *talI*_{MAII}ΔAD construct was made by swapping the central repeat region of a *talF*_{MAII}ΔAD
395 construct with that of *talI*_{MAII}. To create the *talF*_{MAII}ΔAD construct, a PCR product corresponding to
396 a 520 bp fragment encoding the C-terminus of *talF*_{MAII} was obtained with primers ΔAD_Fw and
397 ΔAD_Rv (Table S3), thereby allowing to introduce an inframe 167-nt deletion. This amplicon was
398 introduced into pSKX1_*talF*_{MAII} between the *PvuI* and *HindIII* restriction sites using T4 DNA ligase
399 (Promega®) according to manufacturer's recommendations, creating pSKX1_*talF*_{MAII}ΔAD. The
400 *talI*_{MAII} central repeat region was then swapped into pSKX1_*talF*_{MAII}ΔAD using *StuI* and *AatII*
401 (NEB, New England Biolabs) to generate pSKX1_*talI*_{MAII}ΔAD. The plasmid was confirmed by
402 Sanger sequencing.

403

404 **Expression Analysis by Western Blotting**

405 *Xoo* strains carrying the different combinations of TALE-encoding plasmid, truncTALE (*tal2h*) -
406 encoding plasmid, and empty vectors (pSKX1 or pKEB31) were grown in liquid peptone sucrose
407 medium supplemented with the corresponding antibiotics at 28°C. Cells of 1 ml of a bacterial
408 suspension at an OD₆₀₀ of 0.4 were harvested. Proteins were extracted with the BugBuster® Master
409 Mix (Novagen), according to manufacturer's recommendations. The total protein concentration of
410 each sample was calculated by a Bradford assay following the Bio-Rad Protein Assay protocol
411 (Bio-Rad, USA), and protein concentrations adjusted. TALE and truncTALE expression was
412 analyzed by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis using a 4-15%
413 polyacrylamide gel and immunoblotting using the anti-TALE polyclonal antibody produced by
414 Read et al. (2016) followed by a horseradish peroxidase conjugated rabbit secondary antibody
415 (Sigma-Aldrich). Detection was carried out using the Thermo Scientific™ Pierce™ ECL 2 Western
416 Blotting Substrate kit and a Typhoon™ FLA 9500 (General Electric Healthcare Life Sciences, USA)
417 for imaging.

418 **PCR-amplification of putative functional *Xa1* alleles**

419 To identify rice accessions harboring a potentially functional *Xa1* allele and to decipher the number
420 of 93 aa repetitions, genomic DNA of rice accessions was extracted using an adaptation of the
421 Murray and Thompson protocol (Murray and Thompson 1980) and was subjected to PCR using
422 pairs of primers XaL-F1/XaL-R1 and XaL-F2/XaL-R2, respectively (Table S3; Ji et al. 2020).

423 **Author's Contributions**

424 ML, BS, and MH designed the experiments. ML and MH conducted the experiments. ET
425 participated in plant material growth and propagation. ML, AB, BS, and MH performed data
426 analysis and wrote the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

427 **Funding**

428 This work was supported by the CRP-Rice (CGIAR Research Program) to MH and BS, and the
429 Plant Genome Research Program of the National Science Foundation (Division of Integrative
430 Organismal Systems IOS-1444511 to AJB).

431 **Availability of Data and Materials**

432 The datasets supporting the conclusions of this article are provided within the article and its
433 supplementary information files.

434 **Declarations**

435 **Ethics Approval and Consent to Participate**

436 Not applicable

437 **Consent for Publication**

438 Not applicable

439 **Competing interests**

440 The authors declare that no competing interests exist.

441 **Figure titles and legends**

442 **Fig. S1 Western-blot of PXO99^A *Xoo* transformant total protein extracts using an anti-TALE**
443 **antibody.**

444 Protein extracts prepared from the wild-type *Xoo* strain PXO99^A and the *Xoo* strain PXO99^A
445 carrying, on the vector pSKX1, each of the nine *tal* genes of the Malian strain MAI1 and their
446 variants in the Burkinabe strain BAI3. Reference molecular weights are indicated at right. The
447 expressed MAI1 and BAI3 TALE proteins are each indicated by a red dot. Bands of lower
448 molecular weight not present in the wild-type PXO99^A extract are degradation products of the
449 heterologously expressed TALEs, commonly observed.

450 **Fig. S2. Molecular characterization of a library of BAI3 Δ *tal* mutant strains**

451 Genomic DNA of the wild-type *Xoo* strain BAI3 and derivative BAI3 Δ *tal* mutants were digested by
452 *Bam*HI-HF which cuts on either side of the central repeat region of *tal* genes and revealed by
453 Southern blot using a 725-bp C-terminal *tal*C_{MAI1} amplicon as probe (Yu et al. 2011). Individual
454 mutants were obtained for each *tal* gene with the exception of *talH*. One double *talG/talH* mutant
455 was analyzed instead. BAI3 Δ *talB* was obtained previously, also using the suicide plasmid pSM7
456 (Tran et al., 2018), and is therefore not included here. *tal* genes are indicated to the left and DNA
457 sizes to the right. Red arrows indicate the *tal* gene(s) that were mutated.

458 **Fig. 1 BAI3 Δ *talD* loses avirulence on IR64 but BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF* do not on CT13432**
459 **and FKR47N.**

460 (A) Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and BAI3 Δ *talD* carrying
461 an empty vector (EV) or a plasmid with *talD* (*ptalD*). To assess significance, the parametrical test
462 ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case
463 letter are not significantly different. (B) Leaves of rice varieties CT13432, and FKR47N were clip-
464 inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 and with mutant strains BAI3 Δ *talI* and
465 BAI3 Δ *talF*, respectively. Azucena was included for all strains as a susceptible check. Lesion
466 lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm
467 SD. Significant differences ($p < 0.001$) were determined using an unpaired two-sample t-test, bars
468 with « ns » are not statistically different. Experiments were repeated three time with similar results.

469 **Fig. S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with**
470 **BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF* mutants.**

471 Leaves of rice varieties IR64, CT13432, FKR47N and Azucena were infiltrated with the wild type
472 African *Xoo* strain BAI3 and the mutant derivatives BAI3 Δ *talD*, BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF*.
473 Inoculated leaves were photographed at 5 dpi.

474 **Fig. 2 The resistance of CT13432 and FKR47N against African *Xoo* is largely suppressed by a**
475 **truncTALE.**

476 Leaves of CT13432 and FKR47N rice varieties were inoculated with *Xoo* strains BAI3 and MAI1
477 carrying an empty vector (EV) or the truncTALE *tal2h* as well as *Xanthomonas oryzae* pv.
478 *oryzicola* (*Xoc*) strain BLS256 which is naturally carrying *tal2h* and the mutant strain
479 BLS256 Δ *tal2h*. The susceptible rice variety Azucena and the Asian *Xoo* strain PXO99^A were used
480 as controls. Leaves were photographed at 5 dpi.

481 **Fig. S4. The *tal2h* truncTALE reveals *Xa1*-like resistance against the *Xoo* strain BAI3 in**
482 **several rice varieties.**

483 Leaves of rice accessions, including Carolina Gold Select which carries *Xo1*, and IRBB1 which
484 carries *Xa1*, were infiltrated with *Xoc* strain BLS256 which naturally carries the *tal2h* truncTALE
485 gene, the mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, as well as with *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector
486 (EV) or *tal2h*. The Asian *Xoo* strain PXO99^A which harbors two truncTALEs, was used as an
487 additional positive control. Leaves were photographed at 5 dpi.

488 **Fig. 3 The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of *Xa1*.**

489 The genomic DNA of rice varieties Carolina Gold Select, IR64, CT13432, FKR47N, Nipponbare,
490 Azucena, IRBB1 and IR24 were used as a template for PCR amplification of (A) the junction of the
491 first repeat of 279 base pairs of *Xa1* and its upstream region, (B) the whole repeat region of *Xa1* and
492 alleles, and (C) the housekeeping gene *OsSUT1* used as a control. All the samples were run on the
493 same gel.

494 **Fig. 4 Suppression of *Xa1*-like resistance unmasks *talI* avirulence activity in the rice variety**
495 **CT13432.**

496 (A) Leaves of CT13432 and Azucena plants were clip-inoculated with the *Xoo* strain BAI3 carrying
497 the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3 Δ *talI* mutant carrying the pKEB31 empty vector (EV),
498 the BAI3 strain expressing the *tal2h* truncTALE, and BAI3 Δ *talI* expressing *tal2h* and the pSKX1
499 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3}, *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1} Δ AD. Lesion lengths were
500 measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. (B) Bacterial counts were taken 7
501 days post-inoculation of rice leaves of CT13432 and Azucena inoculated with the same panel of

502 *Xoo* strains used in (A). Statistical tests in both experiments were carried out in R using the
503 nonparametric Kruskal-Wallis and Dunn's tests ($\alpha = 0.05$). Values labeled with the same lower-case
504 letter are not significantly different.

505 **Fig. S5. Western-blot analysis of *Xoo* total protein extracts using an anti-TALE antibody.**
506 Proteins extracts prepared from *Xoo* strain BAI3 carrying the empty vector pKEB31 (EV),
507 BAI3 Δ *talI* carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3 carrying the *tal2h* truncTALE gene, and
508 BAI3 Δ *talI* with *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3} or *talI*_{MAII} or
509 *talI*_{MAII} Δ AD. BAI3 *tal* genes and *tal2h* are indicated to the left and right, respectively. Molecular
510 weight is indicated.

511 **References**

- 512 Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to
513 elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650.
514 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- 515 Boch J, Bonas U, Lahaye T (2014) TAL effectors - pathogen strategies and plant resistance
516 engineering. *New Phytol* 204:823–832. <https://doi.org/10.1111/nph.13015>
- 517 Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of
518 TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512.
519 <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- 520 Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, et al (2014) Code-Assisted Discovery of TAL Effector
521 Targets in Bacterial Leaf Streak of Rice Reveals Contrast with Bacterial Blight and a Novel
522 Susceptibility Gene. *PLoS Pathog* 10:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- 523 Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-
524 spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- 525
- 526 Chu Z, Fu B, Yang H, et al (2006) Targeting xa13, a recessive gene for bacterial blight resistance in
527 rice. *Theor Appl Genet* 112:455–461. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0145-6>
- 528 Djedatin G, Ndjioudjop MN, Mathieu T, et al (2011) Evaluation of African cultivated rice *Oryza*
529 *glaberrima* for resistance to bacterial blight. *Plant Dis* 95:441–447.
530 <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0558>
- 531 Doucouré H, Pérez-Quintero AL, Reshetnyak G, et al (2018) Functional and genome sequence-
532 driven characterization of tal effector gene repertoires reveals novel variants with altered
533 specificities in closely related malian *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains. *Front Microbiol*
534 9:1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01657>

535 Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT)
536 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122.
537 <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>

538 Figurski DH, Helinski DR (1979) Replication of an origin-containing derivative of plasmid RK2
539 dependent on a plasmid function provided in trans. *Proc Natl Acad Sci* 76:1648–1652.
540 <https://doi.org/10.1073/PNAS.76.4.1648>

541 Fragoso CA, Moreno M, Wang Z, et al (2017) Genetic Architecture of a Rice Nested Association
542 Mapping Population. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 7:1913–1926.
543 <https://doi.org/10.1534/G3.117.041608>

544 Garcia-Ruiz H, Szurek B, Van den Ackerveken G (2021) Stop helping pathogens: engineering plant
545 susceptibility genes for durable resistance. *Curr Opin Biotechnol* 70:187–195.
546 <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.05.005>

547 Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new
548 *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546.
549 <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>

550 Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers
551 disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>

552 Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459.
553 <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>

554 Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance
555 gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>

556 Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a
557 broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J*
558 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>

559 Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by
560 Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087.
561 <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>

562 Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-
563 mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>

564 Jiang N, Yan J, Liang Y, et al (2020) Resistance Genes and their Interactions with Bacterial Blight/
565 Leaf Streak Pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in Rice (*Oryza sativa* L.)—an Updated Review.
566 *Rice* 13:. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0358-y>

567 Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting
568 wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front*
569 *Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>

570 Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-
571 specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969.
572 <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>

573 Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and
574 fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto->
575 [102313-045926](https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926)

576 Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice
577 susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant*
578 *Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>

579 Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors.
580 *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>

581 Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic*
582 *Acids Res* 8:4321–4326. <https://doi.org/10.1093/NAR/8.19.4321>

583 Niño-Liu DO, Ronald PC, Bogdanove AJ (2006) *Xanthomonas oryzae* pathovars: Model pathogens
584 of a model crop. *Mol Plant Pathol* 7:303–324. <https://doi.org/10.1111/j.1364->
585 [3703.2006.00344.x](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x)

586 Oliva R, Ji C, Atienza-Grande G, et al (2019) Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice
587 using genome editing. *Nat Biotechnol* 37:1344–1350. <https://doi.org/10.1038/s41587-019->
588 [0267-z](https://doi.org/10.1038/s41587-019-0267-z)

589 Pérez-Quintero AL, Rodríguez-R LM, Dereeper A, et al (2013) An Improved Method for TAL
590 Effectors DNA-Binding Sites Prediction Reveals Functional Convergence in TAL Repertoires
591 of *Xanthomonas oryzae* Strains. *PLoS One* 8:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>

592 Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat
593 analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf
594 streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698.
595 <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>

596 Read AC, Hutin M, Moscou MJ, et al (2020) Cloning of the rice Xo1 resistance gene and
597 interaction of the Xo1 protein with the defense-suppressing *Xanthomonas* effector Tal2h. *Mol*
598 *Plant-Microbe Interact* 33:1189–1195. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-20-0131-SC>

599 Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020) Genome assembly and characterization of a complex
600 zfBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with
601 Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zfBED-NLR gene-containing Dis*
602 *Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678.
603 <https://doi.org/10.1101/675678>

604 Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (2016) Suppression of Xo1-mediated disease resistance in rice
605 by a truncated, non-DNA-binding TAL effector of *Xanthomonas oryzae*. *Front Plant Sci* 7:1–
606 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516>

607 Ryba-White M, Notteghem JL, Leach J. (1995) Comparison of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*
608 strains from Africa, North America, and Asia by restriction fragment length polymorphism

609 analysis. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=QR9500053>. Accessed 14 Aug
610 2021

611 Savary S, Willocquet L, Pethybridge SJ, et al (2019) The global burden of pathogens and pests on
612 major food crops. *Nat Ecol Evol* 3:430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>

613 Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant
614 breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol*
615 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>

616 Song W-YY, Wang G-LL, Chen L-LL, et al (1995) A receptor kinase-like protein encoded by the
617 rice disease resistance gene, Xa21. *Science* (80-) 270:1804.
618 <https://doi.org/10.1126/science.270.5243.1804>

619 Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, et al (2012) RNA-seq pinpoints a *Xanthomonas* TAL-
620 effector activated resistance gene in a large-crop genome. *Proc Natl Acad Sci U S A*
621 109:19480–19485. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

622 Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer
623 TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol*
624 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>

625 Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) Xa26, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv.
626 *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527.
627 <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>

628 Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas*
629 *oryzae* pv. *oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–
630 277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>

631 Tharreau D, Nottoghem JL, Morel JB, et al (2007) Developing Blast Durable Resistance By Using
632 The Wild Rice Species, *Oryza rufipogon* : Presentasi RUTI IV

633 Tian D, Wang J, Zeng X, et al (2014) The Rice TAL effector-dependent resistance protein XA10
634 triggers cell death and calcium depletion in the endoplasmic reticulum. *Plant Cell* 26:497–515.
635 <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>

636 Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas*
637 *oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice.
638 *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>

639 Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger C, et al (2016) A resistance locus in the American heirloom
640 rice variety Carolina Gold Select is triggered by TAL effectors with diverse predicted targets
641 and is effective against African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. *Plant J* 87:472–
642 483. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>

643 Triplett LR, Hamilton JP, Buell CR, et al (2011) Genomic analysis of *Xanthomonas oryzae* isolates
644 from rice grown in the united states reveals substantial divergence from known *X. oryzae*
645 pathovars. *Appl Environ Microbiol* 77:3930–3937. <https://doi.org/10.1128/AEM.00028-11>

646 UTAMI DW, Barnita K, Yuriah S, Hanarida I (2011) Nucleotide Base Variation of Blast Disease
647 Resistance Gene Pi33 in Rice Selected Broad Genetic Background. *HAYATI J Biosci* 18:123–
648 128. <https://doi.org/10.4308/hjb.18.3.123>

649 Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is
650 triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv.
651 *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>

652 Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor r protein and confers broad-spectrum
653 disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>

654 Wonni I, Hutin M, Ouédraogo L, et al (2016) Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New
655 Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa. *Rice Res Open Access* 4:1–
656 8. <https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162>

- 657 Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding
658 a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. [https://](https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x)
659 doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x
- 660 Yu Y, Streubel J, Balzergue S, et al (2011) Colonization of rice leaf blades by an African strain of
661 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* depends on a new TAL effector that induces the rice nodulin-
662 3 Os11N3 gene. *Mol Plant-Microbe Interact* 24:1102–1113. [https://doi.org/10.1094/MPMI-11-](https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254)
663 [10-0254](https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254)
- 664 Zhang B, Zhang H, Li F, et al (2020) Multiple Alleles Encoding Atypical NLRs with Unique
665 Central Tandem Repeats in Rice Confer Resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant*
666 *Commun* 1:100088. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100088>
- 667 Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9.
668 <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>

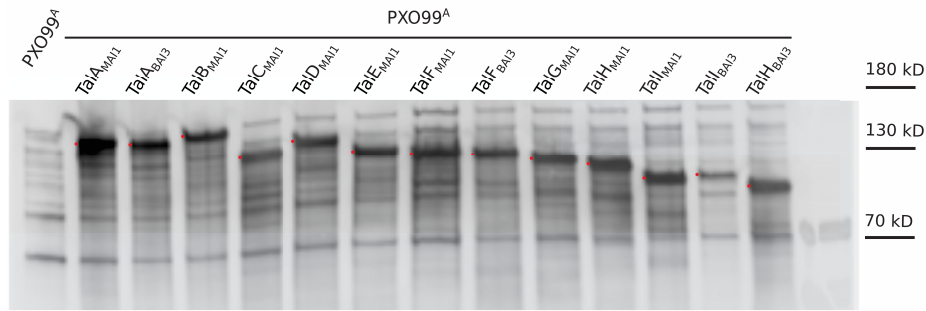


Fig. S1 Western-blot analysis of PXO99^A *Xoo* transformant total protein extracts using an anti-TALE antibody.

Protein extracts prepared from the wild-type *Xoo* strain PXO99^A and the *Xoo* strain PXO99^A carrying, on the vector pSKX1, each of the nine *tal* genes of the Malian strain MAI1 and their variants in the Burkinabe strain BAI3. Reference molecular weights are indicated at right. The expressed MAI1 and BAI3 TALE proteins are each indicated by a red dot. Bands of lower molecular weight not present in the wild-type PXO99^A extract are degradation products of the heterologously expressed TALEs, commonly observed.

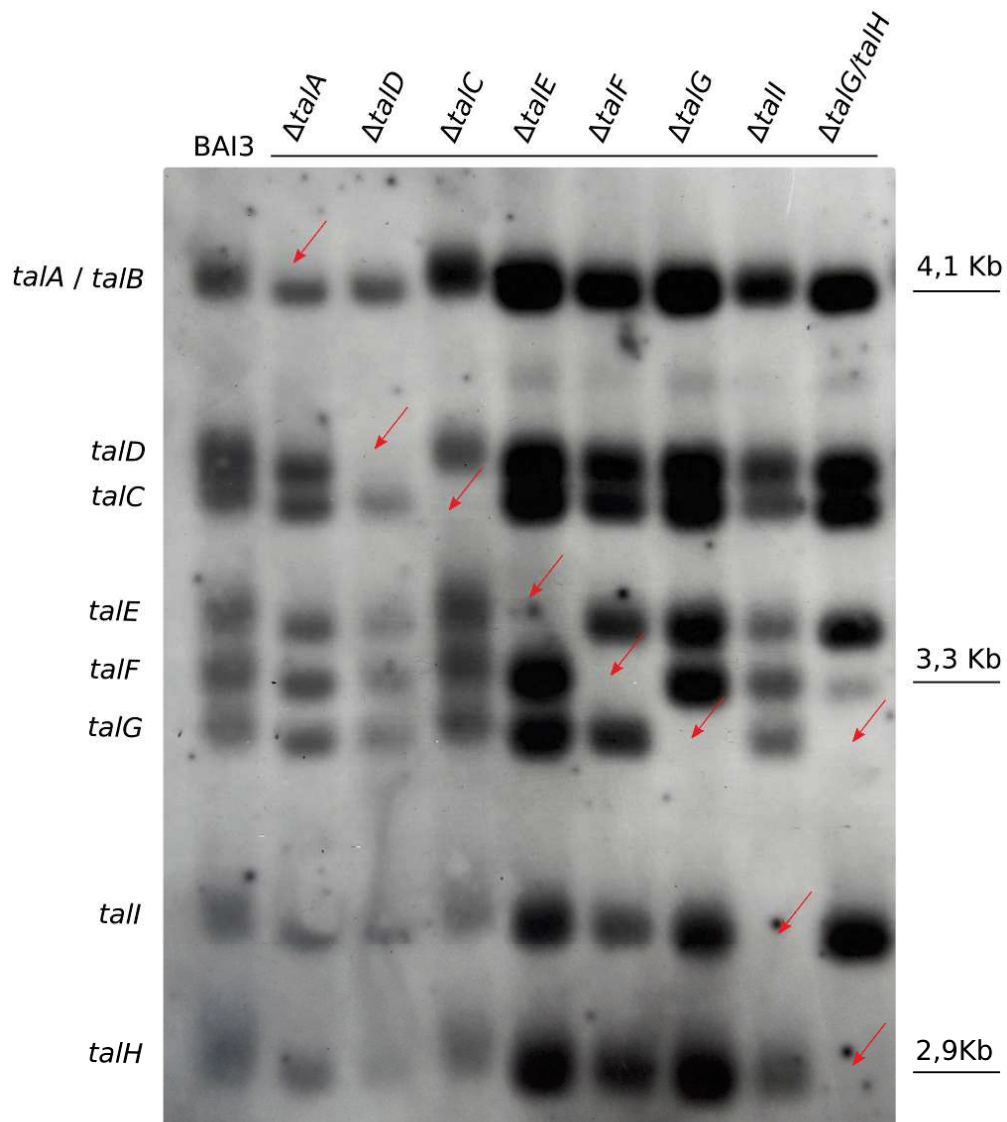


Figure S2. Molecular characterization of a library of BAI3Δtal mutant strains.

Genomic DNA of the wild-type *Xoo* strain BAI3 and derivative BAI3Δtal mutants were digested by *Bam*HI-HF which cuts on either side of the central repeat region of *tal* genes and revealed by Southern blot using a 725-bp C-terminal *talC*_{MA11} amplicon as probe (Yu et al. 2011). Individual mutants were obtained for each *tal* gene with the exception of *talH*. One double *talG/talH* mutant was analyzed instead. BAI3ΔtalB was obtained previously, also using the suicide plasmid pSM7 (Tran et al. 2018), and is therefore not included here. *tal* genes are indicated to the left and DNA sizes to the right. Red arrows indicate the *tal* gene(s) that were mutated.

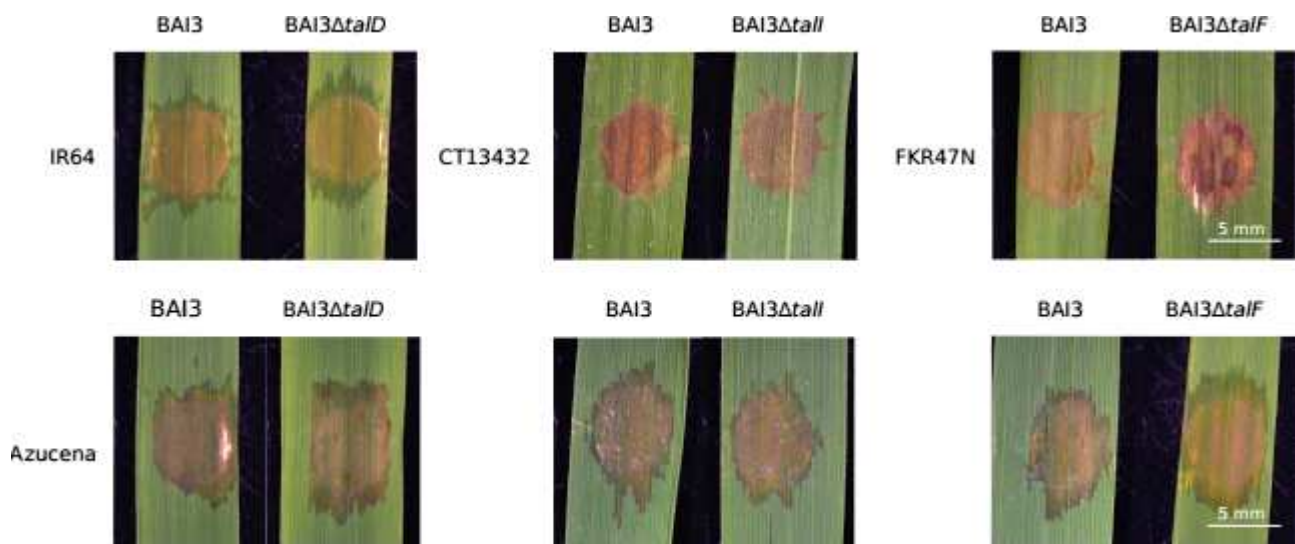


Figure S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with *BAI3ΔtalI* and *BAI3ΔtalF* mutants.

Leaves of rice varieties IR64, CT13432, FKR47N and Azucena were infiltrated with the wild type African *Xoo* strain BAI3 and the mutant derivatives *BAI3ΔtalD*, *BAI3ΔtalI* and *BAI3ΔtalF*. Inoculated leaves were photographed at 5 dpi.

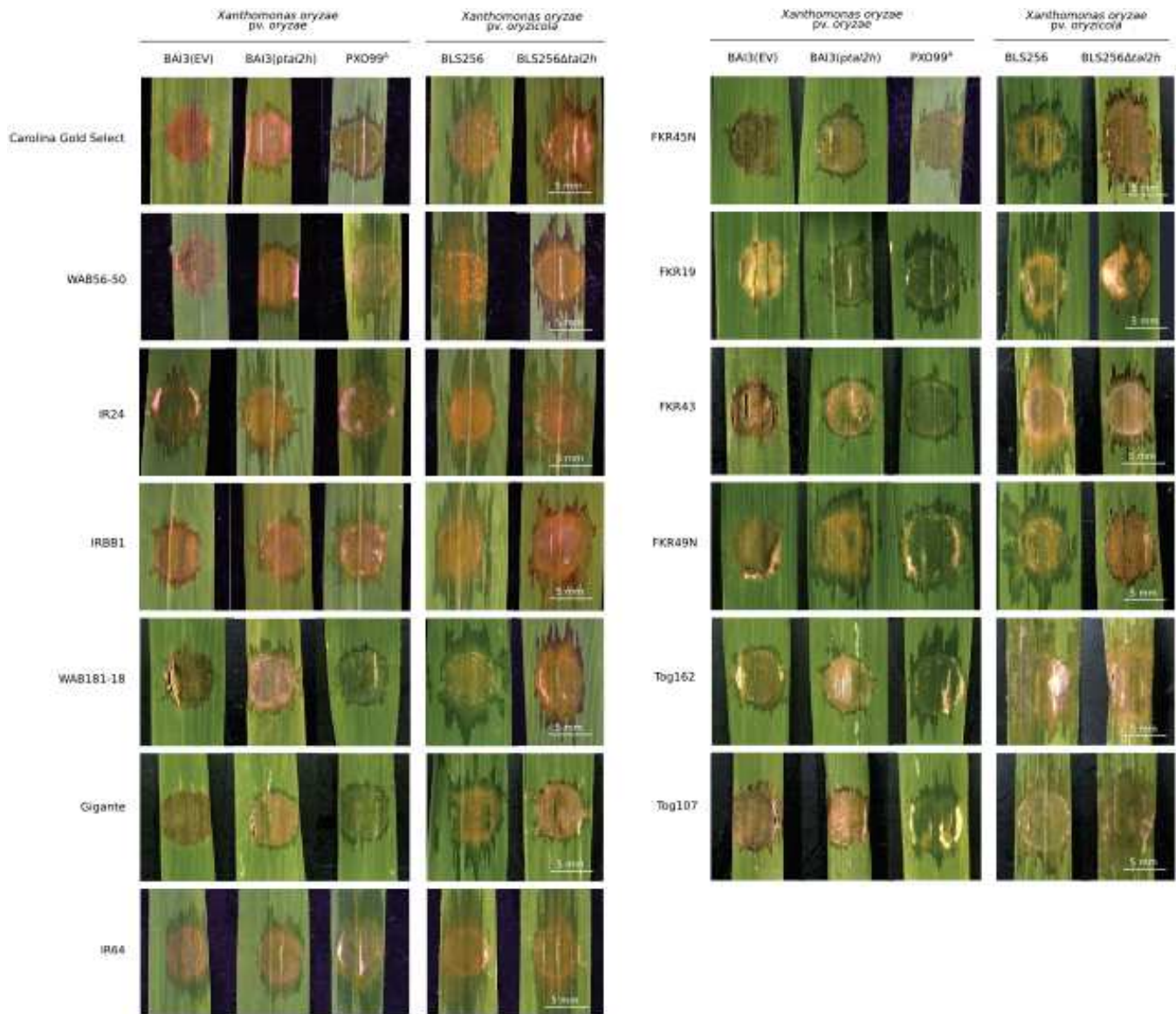


Figure S4. The *tal2h* truncTALE reveals *Xa1*-like resistance against the *Xoo* strain BAI3 in several rice varieties.

Leaves of rice accessions, including Carolina Gold Select which carries *Xo1*, and IRBB1 which carries *Xa1*, were infiltrated with *Xoc* strain BLS256 which naturally carries the *tal2h* truncTALE gene, the mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, as well as with *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector (EV) or *tal2h*. The Asian *Xoo* strain PXO99^A which harbors two truncTALEs, was used as an additional positive control. Leaves were photographed at 5 dpi.

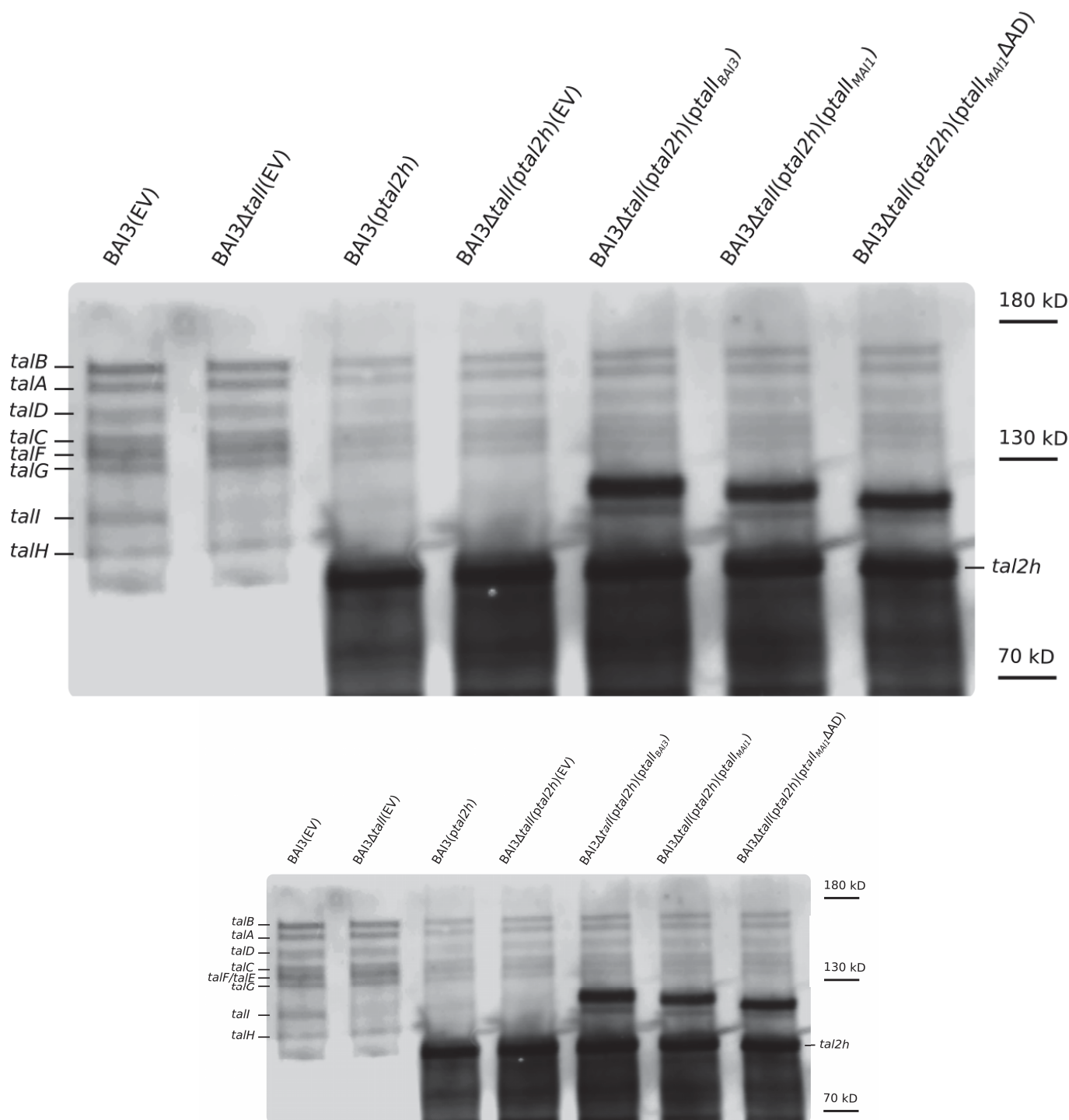


Figure S5. Western-blot analysis of *Xoo* total protein extracts using an anti-TALE antibody.

Proteins extracts prepared from *Xoo* strain BAI3 carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3Δ*talI* carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3 carrying the *tal2h* truncTALE gene, and BAI3Δ*talI* with *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3} or *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1}ΔAD. BAI3 *tal* genes and *tal2h* are indicated to the left and right, respectively. Molecular weight is indicated.

O. glaberrima set

Name§	Country of collection	Sample ORSTOM ID	IRRI IRGC accession #	IITA accession (TOG #)	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
Og_142	Senegal	CG14	96717	CG 14*	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_49	Nigeria	96793	96793	5681	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	MR
Og_81	Guinea	6205	NA	6205	<i>O. glaberrima</i>	R	R	R
Og_94	Liberia	6308	NA	6308	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	S
Og_107	Sierra Leone	96888	96888	7020	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S
Og_187	Gambia	8527	NA	8527	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	MS
Og_97	Liberia	6356	115598	6356	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_106	Sierra Leone	6951	NA	6951	<i>O. glaberrima</i>	R	S	MR
NA	Unknown	6710	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	S
Og_110	Mali	7108	NA	7108	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	S
Og_500	Guinea	YG104	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	S	MS
Og_489	Senegal	CG170	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_162	Chad	7255	NA	7255	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S
Og_108	Sierra Leone	7047	NA	7047	<i>O. glaberrima</i>	R	S	R
Og_22	Nigeria	5453	5453	5453	<i>O. glaberrima</i>	R	S	-
Og_103	Liberia	6698	NA	6698	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	MS
Og_69	Nigeria	5984	NA	5984	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_96	Liberia	6343	NA	6343	<i>O. glaberrima</i>	MR	MR	MR
Og_485	Senegal	CG140	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_507	Guinea	YG325	104189	12438	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_131	Côte d'Ivoire	10449	NA	10449	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MS
Og_496	Senegal	OG19	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	-	MR
Og_181	Burkina Faso	7451	NA	7451	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_510	Guinea	YG367	104371	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_475	Senegal	CG46	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	R
Og_213	Guinea	12401	NA	12401	<i>O. glaberrima</i>	-	MS	MS
Og_73	Nigeria	6142	NA	6142	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_504	Guinea	YG301	104182	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_498	Senegal	SG329	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	R
Og_154	Guinea	YG353	104194	12444	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	MR
Og_180	Burkina Faso	7449	NA	7449	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_67	Nigeria	5976	NA	5976	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MR
Og_105	Sierra Leone	6943	NA	6943	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_104	Sierra Leone	6790	NA	6790	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MS
Og_170	Nigeria	7280	NA	7280	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S
Og_27	Nigeria	5479	NA	5479	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_33	Nigeria	5503	NA	5503	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_151	Guinea	14367	NA	14367	<i>O. glaberrima</i>	S	S	MS
Og_243	Zimbabwe	14184	NA	14184	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_411	Côte d'Ivoire	IG35	103487	7202	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_427	Cameroon	UG20	103594	7266	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	S
Og_153	Guinea	13709	NA	13709	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_20	Nigeria	96751	96751	5438	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_111	Nigeria	5286	NA	5286	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_7	Nigeria	5314	NA	5314	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_19	Nigeria	5437	NA	5437	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_113	Nigeria	5439	NA	5439	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_79	Guinea	86805	86805	6202	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	-
Og_116	Nigeria	5533	NA	5533	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S
Og_129	Nigeria	5997	NA	5997	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_100	Liberia	6603	NA	6603	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_159	Mali	7219	NA	7219	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_184	Côte d'Ivoire	7554	NA	7554	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_163	Nigeria	12086	12086	NA	<i>O. glaberrima</i>	MS	MR	MR
Og_218	Guinea	12426	12426	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	MR
Og_164	Nigeria	12160	12160	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_491	Unknown	OG1	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_486	Unknown	CG150	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_417	Unknown	IG269	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_10	Unknown	5326	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_30	Unknown	5494	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S

O. sativa set

Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
WAB56-50	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
WAB56-104	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	S	S	S
WAB181-18	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
FKR14	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	S	S	S
FKR19	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
FKR28	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	S	S	S
FKR43	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
IR64*	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	R	MR	S
ADNY	Unknown	<i>O. sativa</i>	R	S	S
CT13432	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
Gigante	Unknown	<i>O. sativa</i>	R	R	S
IR8	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	R	S	MS
MG12	Unknown	<i>O. sativa</i>	S	MS	S
Caiapo	Unknown	<i>O. sativa</i>	MR	S	S
Azucena	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	S	S	S

O. barthii set

§ Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
530A1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S
530W1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S
523W1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S

Elite Varieties in West Africa

Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
FKR45N / NERICA 12	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR47N / NERICA 17	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR49N / NERICA 13	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR56N / NERICA-L-41	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	S	S
FKR58N / NERICA-L-60	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	S	S
FKR60N / NERICA-L-20	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	S	S	S
FKR62N / NERICA-L-19	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	S	S	S

Table S1. Rice accessions screened for resistance to African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and susceptibility to PXO99^A.

§ Name reference from Orjuela et al., 2014.

Accession names highlighted in bold are resistant or moderately resistant to MAI1 and BAI3, and susceptible to PXO99^A.

° Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after inoculation. Resistant (R); moderately resistant (MR); moderately susceptible (MS); susceptible (S).

There is a (-) when the strain was not tested on the accession.

The previous name of IRD (Institute of Research for Development) was ORSTOM : « Office de la recherche scientifique et technique » outre-mer.

IRRI IRGC : International Rice Research Institute, International Rice Genebank Collection.

NA means « Not Assigned », when no IRRI or ITTA name was assigned to an accession.

* genome accession sequenced.

		<i>CT13432</i>	<i>FKR19</i>	<i>FKR43</i>	<i>FKR45N</i>	<i>FKR47N</i>	<i>FKR49N</i>	<i>Gigante</i>	<i>WAB181-18</i>	<i>WAB56-50</i>	<i>IRBB1*</i>	<i>CGS^o</i>	<i>Og_162</i>	<i>Og_107</i>	<i>IR64</i>
Leaf-clipping (a)	MAI1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	BAI3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MR	MR	MR
	PXO99^A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Infiltration (b)	MAI1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	BAI3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Table S2. Prevalence of Xa1-like activity in rice accessions resistant to African *Xoo* strains MAI1 and BAI3.

(a) Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after leaf-clip inoculation. Resistant (R); moderately resistant (MR); moderately susceptible (MS); susceptible (S).

(b) Leaf infiltration phenotypes were scored 5 days after inoculation. (+) Hypersensitive reaction ; (-) Water-soaking.

* IRBB1 is a control accession harboring the *Xa1* resistance gene.

^o Carolina Gold Select (CGS) is a control accession harboring the *Xo1* resistance gene.

Primer	Sequence (5' to 3')	Goal	Source
Tal-Ct-Fw2	GCGTTGGCCGCGTTGACCAA	Probe amplification for Southern blotting	Yu <i>et al.</i> , 2011
Tal-Ct-Rev2	GGGGCCGCATCTTGTTCCCA		
XaL-F1	ATCAGGAACTTGAAGTCCAG	Xa1 alleles identification	Ji <i>et al.</i> , 2020
XaL-R1	AACCACTGATTGCGGAAGG		
XaL-F2	CCTCCGCAATCAGTGTT		
XaL-R2	AATGTAGCAAGCGACGCACA	Estimation of LRRs number in <i>Xa1</i> alleles	
SUT1 Fw	GTCGGTCTATACAGTGATAGGTG	Amplification of the housekeeping gene <i>OsSUT1</i>	Eom JS personal communication
SUT1 Rv	GAACAGAAGATGGAGTTAGCTGT		
ΔAD Fw	CACGCATTTGATGAGGCCATGACG	Construction of pSKX1-ΔAD	This study
ΔAD Rv	TGCCGACCTGGCAGCGTCCAGCGAGGACTACAAAGACGATGACGACAAGTGAAGCTTAA		

Table S3. List of primers used in this study.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
Strains			
Escherichia coli			
DH10 β	Strain used for triparental mating		Life Technologies, Rockville, MD, USA
Helper strain	used for triparental mating, helper plasmid pRK2013	Kanamycin	Figurski and Helinski 1979
Xanthomonas oryzae pv. oryzae			
PXO99 ^A	Asian strain	Rifampicin	Hopkins et al., 1992
PXO99 ^A (pSKX1 EV)	PXO99 ^A transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Gentamicin	This study
PXO99 ^A (<i>ptales</i>)	PXO99 ^A transformed with <i>tale</i> genes of MAI1 expressed in pSKX1	Rifampicin, Gentamicin	This study
MAI1	Malian strain race A3	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
MAI1(pKEB31 EV)	MAI1 transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Tetracycline	This study
MAI1(<i>ptal2h</i>)	MAI1 transformed with <i>ptal2h</i>	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3	Burkinabe strain race A1	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3(pKEB31 EV)	BAI3 transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3(<i>ptal2h</i>)	BAI3 transformed with <i>ptal2h</i>	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3 Δ <i>tall</i> (pKEB31_EV)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline	This study
BAI3 Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(pSKX1_EV)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3 Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{BAI3})	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{BAI3}	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3 Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{MAI1})	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{MAI1}	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3 Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{MAI1} Δ AD)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{MAI1} Δ AD	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
Xanthomonas oryzae pv. oryzicola			
BLS256	Asian strain	Rifampicin	Bogdanove et al., 2011
BLS256 Δ <i>tal2h</i>	<i>tal2h</i> knock-out mutant of BLS256	Rifampicin, Tetracycline	Read et al., 2016
Plasmids			
pSKX1_EV	Empty vector	Gentamicin	Streubel et al., 2013
<i>ptalD</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>talD</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
<i>ptall</i> _{BAI3}	pSKX1 vector expressing <i>tall</i> _{BAI3}	Gentamicin	This study
<i>ptall</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>tall</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
<i>ptalF</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>talF</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pSKX1- Δ AD	Vector used for the expression of <i>tale</i> Δ AD derivative	Gentamicin	This study
pSKX1- <i>talF</i> _{MAI1} Δ AD	pSKX1- Δ AD vector expressing <i>talF</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pSKX1- <i>tall</i> _{MAI1} Δ AD	pSKX1- Δ AD vector expressing <i>tall</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pKEB31_EV	Empty vector	Tetracycline	Cermak et al., 2011
<i>ptal2h</i>	pKEB31 vector expressing the truncTALE <i>tal2h</i>	Tetracycline	Read et al., 2016
pSM7	Suicide plasmid for <i>tale</i> mutagenesis	Kanamycin	Cernadas et al., 2014

Table S4. Bacterial strains and plasmids used in this study.

Chapitre 2 : Identification de QTL majeurs et mineurs conférant la résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* chez le riz (*Oryza sativa* ssp. *indica*)

Contexte

Des données générées par Gustave Djedatin pendant sa thèse, rapportent l'identification dans la variété IR64 de plusieurs loci conférant une résistance spécifique aux souches Africaines de *Xoo* (Djedatin et al., 2016). Grâce à une population de lignées recombinantes (RIL, pour *Recombinant Inbred Lines*) de génération F₉ issues du croisement entre la variété résistante IR64 (*O. sativa* ssp. *indica*) et la variété sensible Azucena (*O. sativa* ssp. *japonica* tropicale), trois QTL de résistance aux souches Africaines avaient été identifiés. Par ailleurs, l'identification (dans le chapitre 1) du TALE d'avirulence TalD chez les souches Africaines MAI1 et BAI3 induisant de la résistance dans la variété IR64 pourrait rajouter une nouvelle pièce au puzzle. L'objectif de cette partie était donc dans un premier temps de confirmer et préciser les zones QTL précédemment rapportées, et dans un second temps de vérifier l'hypothèse de l'existence d'un lien entre les QTL de résistance identifiés et ce TALE d'avirulence commun à plusieurs souches Africaines.

Matériels & Méthodes/Stratégie

Dans le but de répondre à l'objectif de ce projet, j'ai eu à ma disposition les descendants F₁₁ de la population de RIL utilisée par Gustave Djedatin lors de sa thèse (2016). Cette population, composée de 210 lignées qui ont chacune été séquencée par la technologie Illumina, possède entre 1 et 1,5 million de marqueurs SNP par lignée (collab. M. Lorieux, CIAT/IRD). Toutes les lignées disponibles (donnant plusieurs plantes en capacité d'être inoculées), soit 80 lignées, ont été criblées avec les souches Africaines de *Xoo* MAI1, BAI3 et la souche Asiatique PXO99^A, dans le but de confirmer les zones de QTL précédemment identifiées. Par ailleurs, une autre population de 542 familles F_{2:3} provenant aussi du croisement entre IR64 et Azucena était à disposition au CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombie). Certaines de ces familles ont été sélectionnées car leurs F₂ étaient recombinantes au niveau des QTL identifiés à partir de la population F₁₁ sur une distance, en paires de bases, qui varie. Pour aller plus loin et pouvoir faire le lien entre un de ces QTL de résistance et le TALE d'avirulence TalD, une partie des lignées recombinante de la population F₁₁ a été criblée avec la souche sauvage BAI3 et la souche mutante BAI3[°]*talD* portant soit un vecteur vide (EV), soit complémentée avec *talD* (*ptalD*).

Résultats & Conclusion(s)

Suite à l'inoculation de 80 lignées de la population de RIL avec les souches MAI1, BAI3 et PXO99^A, plusieurs QTL impliqués dans la résistance aux souches Africaines de *Xoo* ont pu être

identifiés chez IR64. Certains des QTL identifiés lors de cette étude coïncident avec ceux précédemment rapportés par Gustave Djedatin (2016). D'autres n'ont pas été retrouvés, mais de nouveaux QTL ont été mis en lumière. De plus, le criblage d'une partie de la population F₁₁ a permis d'établir un lien entre le QTL de résistance au niveau du chromosome 11 et le TALE d'avirulence TalD. Pour finir, l'utilisation d'une population F_{2:3} IR64 x Azucena, a permis de réduire à 25 kb l'intervalle du QTL sur le chromosome 11, diminuant ainsi le nombre de gènes candidats à seulement quatre.

Perspectives

Des analyses du transcriptome avec les souches sauvages MAI1 et BAI3, et avec la souche mutante BAI3 Δ talD transformée avec un vecteur vide, ou complémentée avec *talD*, pourraient être entreprises. Ces analyses permettraient d'identifier, d'une part, les potentiels gènes exécuteurs candidats ciblés par TalD dans les QTL sur le chromosome 11, et d'autre part, de mettre en évidence les voies communes et spécifiques de la résistance induites par MAI1 et BAI3 chez IR64.

Par la suite, le *knock-out* ou *knock-down* par édition des gènes candidats, par CRISPR-Cas9 par exemple, ainsi que le clonage de ces derniers et leur transformation dans des variétés sensibles (i.e. complémentation fonctionnelle), permettrait de confirmer que les gènes candidats sont bien responsables de la résistance observée sur IR64 suite à l'inoculation de MAI1 et BAI3.

Implication personnelle

Mathias Lorieux m'a accompagnée dans les analyses des données de cartographie, et l'utilisation des logiciels MapDisto, Qgene et QTL IciMapping. Mathias L. a également réalisé le séquençage du matériel génétique (populations), identifié les marqueurs SNP, et réalisé l'imputation de ces données avec le logiciel NOISYmputer. Les graphiques avec les données de cartographie ont été réalisés sous R et MapDisto par moi-même. Émilie Thomas a participé aux semis des lignées de la population de RIL F₁₁ pour les expérimentations, ainsi que pour la propagation des graines. Le reste des expériences a été entièrement réalisé par mes soins (inoculation des souches bactériennes, lectures des lésions, analyse des données).

Identification of major and minor QTLs conferring resistance to African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice (*Oryza sativa* ssp. *indica*)

Marlène Lachaux¹, Mathias Lorieux², Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²DIADE DIversity-Adaptation-DEvelopment of plants, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, CNRS, Montpellier, France

Abstract

Caused by the gram-negative bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), Bacterial Leaf Blight (BLB) is considered among the most devastating diseases in Asia and Africa, causing up to 50% of yield losses. Studies on the diversity of *Xoo* strains reported that African *Xoo* are genetically distant from Asian ones and they trigger specific resistance sources in rice. Nonetheless, to date few resistance QTLs or major resistance genes effective against African *Xoo* strains have been identified, compared to Asian strains. As BLB represents a major threat in West Africa, breeding programs have implemented various strategies, such as pyramiding of several *R* genes into commercial rice varieties, in order to minimize epidemic consequences.

In this study, using Recombinant Inbred Lines (RILs) from the cross between the elite *indica* IR64 variety and the tropical *japonica* Azucena landrace, a mapping analysis revealed novel, shared and specific resistance QTLs against African *Xoo* strains. Moreover, our results suggest that one of the QTL (*qABB-11*), conferring resistance to four African strains of *Xoo*, is associated to the avirulence gene *talD* which we previously have shown to promote resistance on IR64.

Introduction

The ancient domesticated crop, rice (*Oryza sativa* L.) is a staple food for much of the world's population and one of the most widely cultivated crops on Earth (Ainsworth 2008). Unfortunately, the continuous increase in production to meet the strong demand due to the population growth faces many challenges. In nature, plants face multiple abiotic stress caused by droughts, floods and extreme temperatures, or biotic stress promoted by diverse and widespread pathogens causing numerous diseases. Following the recent expansion and intensification of rice cultivation in Africa, major threats that could cause severe production losses have emerged. Indeed, since the 1980s Bacterial Leaf Blight (BLB) disease, caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), has been reported in several regions of Africa (Gonzalez et al. 2007; Verdier et al. 2012). *Xoo* represents a significant threat for agriculture and global food security, as it can cause up to 50% of yield losses depending on several parameters, as the rice variety, the environmental conditions and the host growth stage (Liu et al. 2014).

To overcome this threat, breeding programs have implemented various strategies, such as development of resistant lines or cultivars which is more effective and economical way of control than chemicals. In order to do this, *R* genes against *Xoo* are required, and thankfully, to date in rice more than 40 *R* genes have been identified and among them 12 have been cloned (Jiang et al. 2020). The identified resistance genes encode different types of proteins that suggest multiple mechanisms of resistance to *Xoo*. Of the 12 rice *R* genes characterized to date, only 3 (*Xa3/Xa26*, *Xa4*, and *Xa21*) encode protein kinases and 9 (*Xa1*, *xa5*, *Xa7*, *Xa10*, *xa13*, *Xa23*, *xa25*, *Xa27*, *xa41*) involve *Xanthomonas* TAL effectors. Four of them are executor (*E*) genes (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* and *Xa27*) uniquely induced by TALEs found in Asian *Xoo* strains (Hopkins et al. 1992; Gu et al. 2005; Wang et al. 2014), four are recessive loss-of-susceptibility resistance alleles including *xa5* (*OsTFIIA γ 5*), *xa13* (*OsSWEET11*), *xa25* (*OsSWEET13*), and *xa41* (*OsSWEET14*) (Römer et al. 2010; Liu et al. 2011; Hutin et al. 2015), and only one, *Xa1*, encodes an NLR (nucleotide-binding domain leucine rich repeat) (Yoshimura et al. 1998). Widely deployed in breeding programs as single *R* gene, some of them were unfortunately overcome by certain races of the pathogen. For example, strains with mutated *avrXa7* overcome the resistance mediated by *Xa7*, and the deployment of *Xa4* on 80% of total rice farming area in Philippines favored the emergence of *Xa4*-overcoming strains (Mew 1992; Vera Cruz et al. 2000; Quibod et al. 2020). Moreover, the resistance gene *xa5*, yet effective against a broad spectrum of *Xoo* strains, is ineffective against strains that possess the TALE gene *pthXo1* such as PXO99^A and PXO71 (Huang et al. 2016). Therefore, to prevent breakdown of resistance due to pathogenic variation in *Xoo*, enhancing host resistance by pyramiding two or more effective resistance genes into commercial rice varieties, is considered the most effective strategy to achieve durable disease resistance in rice. For example, the resistance genes *Xa7* and *Xa21* have been

introgressed into the susceptible line "Minghui 63", a restorer line widely used in hybrid rice production in China. This line and others having only one of the resistance genes were evaluated for resistance after inoculation with 10 isolates of pathogens, and the pyramided double resistance line "Minghui 63" showed a higher level of resistance to BLB than the others, clearly indicating that pyramiding of dominant genes is a useful approach for improving BLB resistance in rice (Zhang et al. 2006).

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* strains from Asia and their counterpart from Africa although having the same mode of infection, differ in some points. First, they are genetically distant from each other and the African *Xoo* lineage is closer to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) which is the causal agent of bacterial leaf streak (Poulin et al. 2015). Moreover, a particular feature of African *Xoo* is their restricted TALome (*tal* genes repertoire) compared to Asian *Xoo*, with up to 9 and 19 copies respectively. Furthermore, no TALE is conserved between African and Asian strains (Lang et al. 2019), suggesting that they promote different sources of resistance. While many studies have been conducted these last years on Asian *Xoo* strains in order to identify effective resistance sources in rice germplasm, much less is known about African *Xoo* which were discovered more recently. Nonetheless, some works have reported the identification of resistance sources against African *Xoo*. IRBB Near-Isogenic Lines (NILs) introgressed with *Xoo* resistance genes were screened against several African *Xoo* strains. Some of them showed resistance phenotype, indicating the existence of underlying resistance genes that could be useful to control African *Xoo* (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020). Moreover, Djedatin et al. identified, upon screening of a rice germplasm, 20 accessions of *O. glaberrima* highly resistant to the Malian *Xoo* strain MAI1 and two accessions moderately resistant to the Burkinabe *Xoo* strain BAI3. For *O. sativa*, five accessions were identified to be highly resistant to the African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and BAI4 (Djedatin et al. 2011). To provide new resistance sources to breeders, improved varieties such as NERICA (NEw RICE for Africa) were also tested. NERICA varieties are derived from the interspecific crosses between Asian *O. sativa* spp. known for their high yield, and African *O. glaberrima* accessions which are adapted to withstand various local biotic and abiotic stresses. Among the 11 elite rice varieties tested, five of them were shown to control the three African *Xoo* strains assessed in this study, while Asian *Xoo* strains turned out to be virulent on the same varieties (Wonni et al. 2016). Djedatin et al. (2016) identified resistance sources in the elite rice variety IR64 against four African *Xoo* strains, from three different races. Using a population of Recombinant Inbred Lines (RILs) resulting from the cross between the elite variety IR64, highly resistant to African *Xoo* strains, and the susceptible variety Azucena, they were able to identify five quantitative trait loci (QTLs) of resistance on chromosomes 1, 7, 9, 10 and 11. Of these QTLs the one on chromosome 11 is shared by African and Asian *Xoo* strains (Djedatin et al. 2016). Recently, Bossa-Castro et al. (2018) also

mapped several disease resistance QTLs effective against African *Xoo* strains using Multiparent Advanced Generation InterCross (MAGIC) populations for interval mapping (IM) and GWAS analyses. The QTLs of resistance identified were located on most of the 12 chromosomes but not on chromosomes 3, 6, 8 and 9 (Bossa-Castro et al. 2018). Interestingly, the QTL of resistance found on the chromosome 11 which confers resistance to African and Asian *Xoo* strains, seems to be also effective against *Xoc* (Djedatin et al. 2016; Bossa-Castro et al. 2018). More recently, Lachaux et al. shed light on the presence of an *Xa1*-like resistance source effective against African *Xoo* in six *O. sativa* spp. accessions and three NERICA varieties. Besides, the TAL effector TalD from the MAI1 and BAI3 strains was found to act as an avirulent factor on the IR64 variety, highlighting another mechanism of resistance against African *Xoo* (Lachaux et al. preprint).

In this study, in order to identify underlying resistance sources against African *Xoo* strains, populations of RILs of F₁₁ and F₃ generation from the cross between the highly disease resistance elite *indica* variety IR64 and the highly susceptible *japonica* variety Azucena, were used to evidence resistance QTLs by mapping analysis. In a previous study, two resistance loci against African *Xoo* strains were identified on chromosome 7 and 11, located in an interval defined by markers RM481 and RM214 (representing ~10 Mb), and by markers RM224 and RM144 (representing ~1 Mb), respectively, mapped on Nipponbare (Djedatin et al. 2016). Herein, we report on the identification of new loci of resistance against African *Xoo* and the base pairs reduction of the interval of these two previous QTLs on chromosomes 7 and 11. Moreover, we show a correlation between the presence of *talD* and the resistance phenotype conferred by the QTL on chromosome 11 suggesting that TalD-mediated resistance could depend on a gene localized in this QTL.

Generation of RILs from the IR64 x Azucena Population	<i>Xoo</i> strains	Lesion lengths (cm) on		
		IR64	Azucena	RILs
F ₁₁	MAI1	1.6 ± 0.5	16.5 ± 4.7	0.1 to 40
	BAI3	6.9 ± 2.7	22.8 ± 8.3	0.5 to 40
	PXO99 ^A	17.5 ± 2.3	21.0 ± 4.6	0.8 to 38

Table 1. Lesion lengths induced by African *Xoo* on recombinant inbred lines of the F₁₁ generation and their parents.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Results

Combination of two data sets before mapping analyses

Prior starting the analyses, since our data are based on the analysis of an F₁₁ population itself deriving from an F₉ population which was described in previous reports (Djedatin et al 2016), we first considered completing our dataset (80 lines of the IR64 x Azucena F₁₁ population) with Djedatin's data consisting in 148 lines of an IR64 x Azucena F₉ population. When a data for a line family was available in both datasets, we kept our data for subsequent analyses. In contrast, when a data was missing from our dataset and available in Djedatin's, we included Djedatin's data, leading to a total of 159 RILs to be used for our analyses.

Screening of the IR64 x Azucena F₁₁ population with *Xoo* strains

In order to identify resistance sources against the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, 80 F₁₁ lines resulting from a cross between IR64 x Azucena were screened. The average lesion lengths induced by *Xoo* African strains on IR64 and Azucena were respectively of 1.6 cm ± 0.5 and 16.5 cm ± 4.7 with *Xoo* MAI1; and of 6.9 cm ± 2.7 and 22.8 cm ± 8.3 with BAI3. The disease scores of the RILs range widely, from as low as 0.1 cm to as high as 40 cm, and 0.5 cm to 40 cm with *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively (Table 1). Here, the continuous variation of the mean of lesion lengths indicates the existence of several QTLs underlying the segregation of resistance (Fig. 1). Regarding the overall distribution of lesion lengths caused by BAI3 on the population of RILs, there is no concentration of phenotypic value around a particular one. Additionally, as shown in Fig. 2, the density curve of the lesion lengths exhibits for BAI3 an approximately normal distribution with transgressive segregation towards both directions, meaning here that the *Xoo* strain BAI3 is controlled by several minor QTLs of resistance. A contrario for MAI1, the density curve shows a phenotypic concentration around the same value, meaning that one major QTL and some minor ones are likely controlling the resistance to *Xoo* strain MAI1 (Fig. 2). Both parents, IR64 and Azucena, are susceptible to Asian *Xoo* strain PXO99^A with an average lesion length of 17.5 cm ± 2.3 and 21 cm ± 4.6, respectively. The lesion lengths of the RIL population inoculated with PXO99^A range from 0.8 to 38 cm (Table 1), and the continuous variation of lesion means indicates that some resistance to the Asian strain is also controlled by QTLs (Fig. 1). Moreover, the distribution in the RILs population of the lesion lengths caused by PXO99^A does not show a concentration of phenotypic value at the same point, as depicted by the density curve which exhibits an approximately normal distribution with transgressive segregation towards both directions. These data indicate that PXO99^A is controlled by several minor QTLs of resistance (Fig. 2).

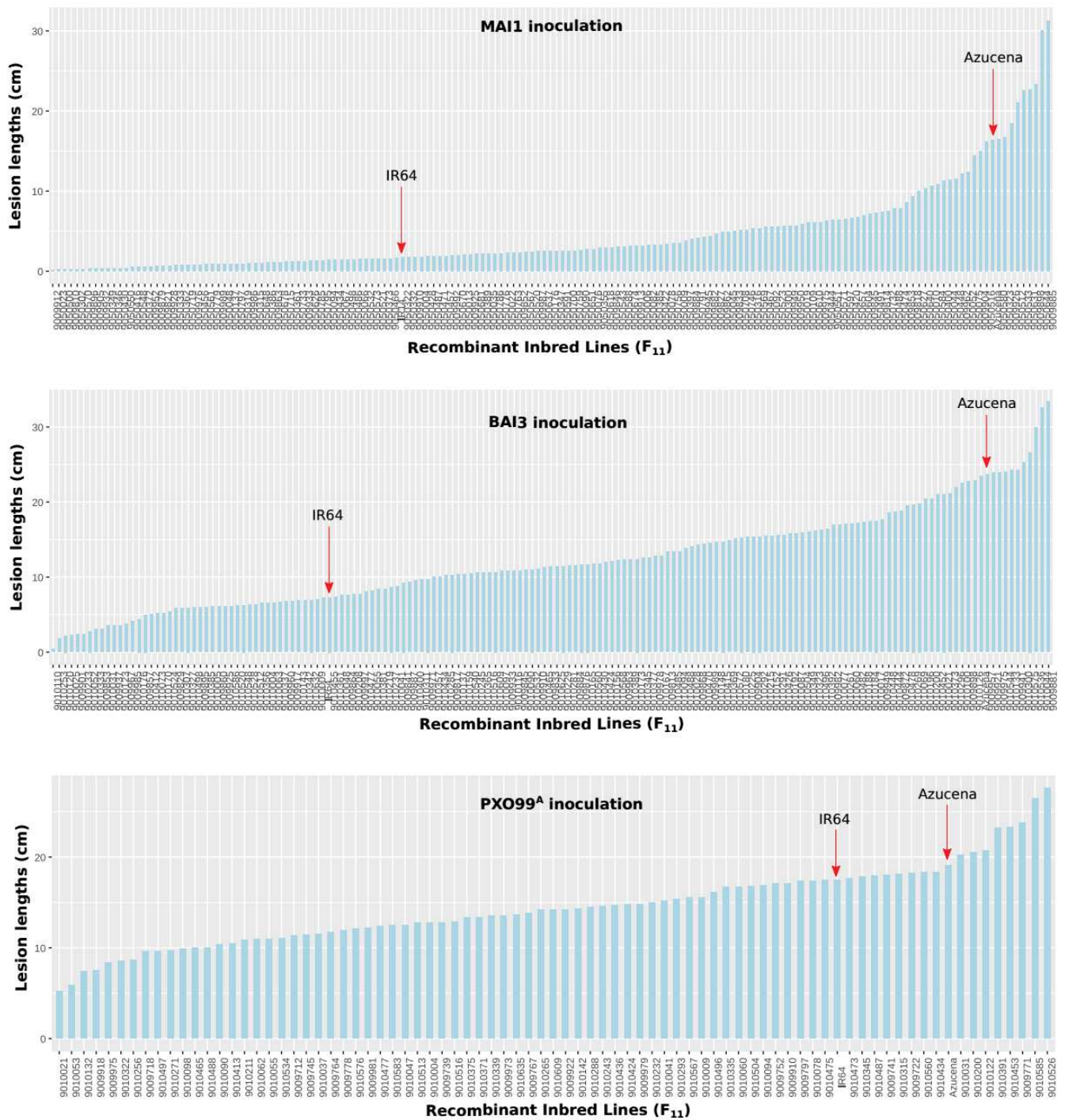


Figure 1. Lesion lengths distribution in the F_{11} population following inoculation with African and Asian strains of *Xoo*.

Leaves of RILs from the IR64 x Azucena F_{11} population and of the two control parental varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and with the Asian *Xoo* strain PXO99^A, by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of four measurements of three repetition.

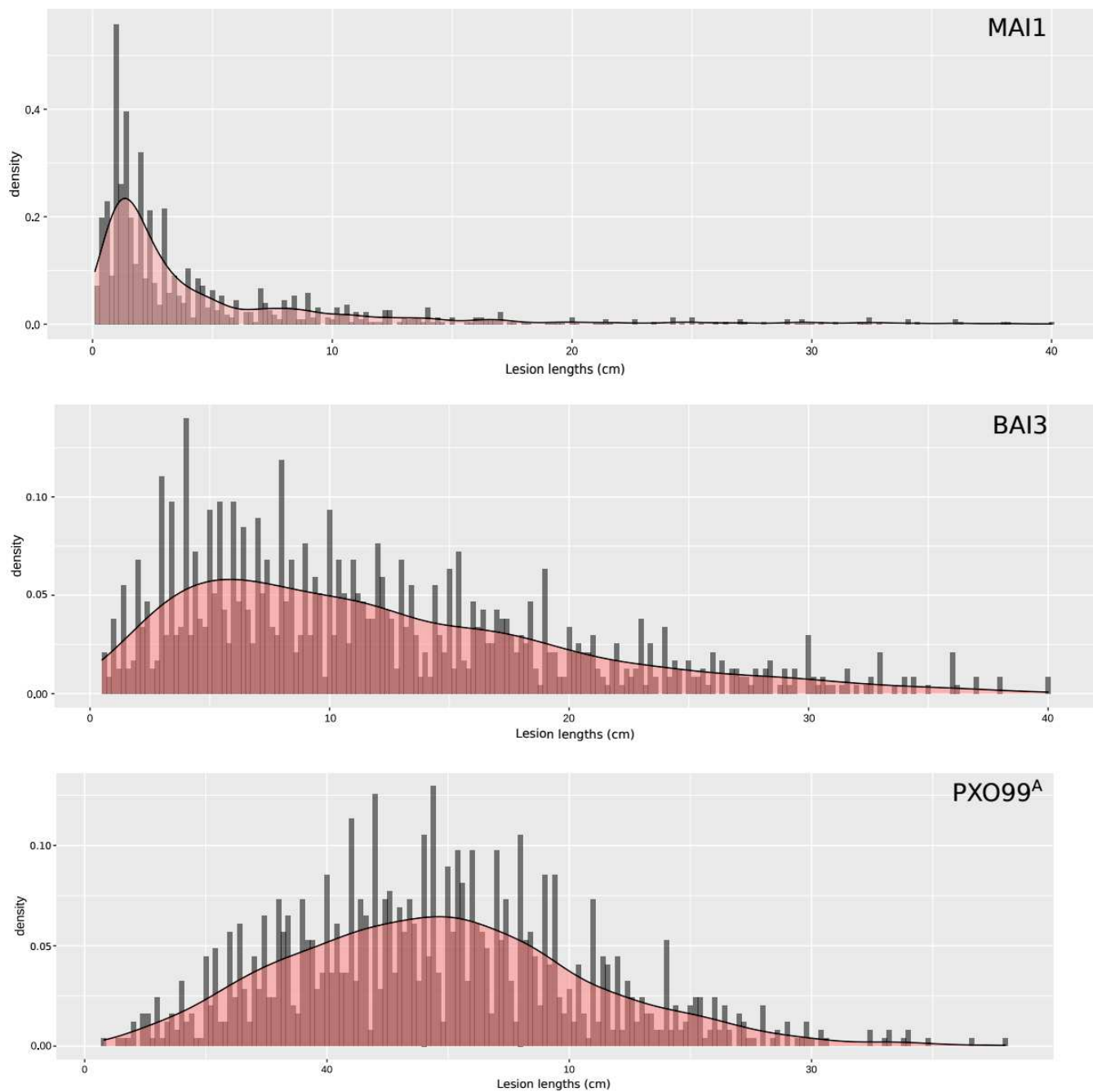


Figure 2. Density curve of the lesion lengths of the F_{11} population following inoculation with African and Asian *Xoo* strains.

Histogram of lesion lengths distribution on the IR64 x Azucena F_{11} population and the rice control varieties IR64 and Azucena, representing the lesion length counts for MAI1, BAI3 and PXO99^A *Xoo* strains. The red curve represents the density of the lesion length counts.

Identification of Resistance Quantitative Trait Loci using SNP markers

The genetic map used in this study for the IR64 x Azucena F₁₁ population was composed of 1 to 1.5 million SNP markers called from the IR64 genome. The imputed collapsed SNP x RILs matrix obtained after removing the SNPs located outside of the recombination breakpoints, ended up with 12,506 SNP markers. The SNPs covered 1492.1 cM of the genome with an average inter-marker interval of 0.119 cM. Analysis of variance (ANOVA) carried out using the MapDisto software (Lorieux 2012), evidenced seven putative QTLs providing resistance against the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and two putative QTLs against the Asian *Xoo* strain PXO99^A (Table 2; Fig. S1). Two of them, *qABB-7* and *qABB-11*, respectively positioned on chromosomes 7 and 11, are explaining a large part of the phenotype variation, and were already reported previously (Djedatin et al., 2016). *qABB-7*, specific to MAI1, is linked to the SNP markers Chr07_6044549 and Chr07_6314584, with a LOD score of 17.7 and a percentage of variance explained (R²) of 36%. *qABB-11*, for its part, is linked to the SNP markers Chr11_30635775 and Chr11_30871520, with a LOD score of 2 and 7.2 for MAI1 and BAI3, respectively. This latter QTL controls 5% and 18.4 % of the phenotypic variation induced by MAI1 and BAI3, respectively (Table 2). The other resistance QTLs evidenced in this study to confer resistance against MAI1 and BAI3 highlighted a more minor effect. Related to the strain PXO99^A, two QTL were evidenced on chromosomes 5 and 9. Additive effect, linked markers, LOD score value and PVE (Percentage of Variance Explained) related to the African and Asian *Xoo* strains are summarized in Table 2. The estimated additive effects from the ANOVA show that these loci derive from the resistant parent IR64, except for *qABB-8* and *qBB-5* which derive from Azucena. Most importantly, we were able through the use of a great number of markers to decrease the QTL size intervals of *qABB-7* and *qABB-11*, previously identified by Djedatin *et al.* (2016), from 10 Mb to 300 kb, and from 1 Mb to 250 kb, respectively. Previous work reported *qABB-11* to be involved in the resistance against the four following African *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3 (Djedatin et al., 2016). Since these four *Xoo* strains evidence the same QTL, we made the hypothesis that this major resistance QTL might be elicited by a conserved type-3 effector.

Association of *qABB-11* with the presence of TalD

Owed to their importance in the Rice-*Xoo* pathosystem, we first paid attention to TAL effectors repertoires. As shown in Fig. 3, our analysis show that all four strains display a similar set of TALEs clustered in nine groups, including four that are absolutely monomorphic namely TalC, TalD, TalE and TalG. In a previous study, Lachaux et al. reported the role of TalD in the avirulence activity of BAI3 on IR64 (Chapter 1). TalD being highly conserved between the four African *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3 (Fig. 3), we aimed at testing whether this TAL effector could be

<i>Xoo</i> strains	Country of origin	QTL localization: chromosome	QTL name	$-\log_{10}(p)$	LOD score	Closely linked markers	Marker position (cM)	Additive effect	Donor Allele	PVE (%)
MAI1	Mali	3	<i>qABB-3a</i>	3	2.4	Chr03_34450781- Chr03_34491227	146.02	0.03	IR64	5.9
		4	<i>qABB-4</i>	2.7	2.1	Chr04_18387103- Chr04_18407020	40.96	0.03	IR64	5.2
		7	<i>qABB-7</i>	18.5	17.7	Chr07_6044549- Chr07_6314584	37.92	0.7	IR64	36
		11	<i>qABB-11</i>	2.6	2	Chr11_30635775- Chr11_30871520	87.15	0.03	IR64	5
BAI3	Burkina Faso	3	<i>qABB-3b</i>	3.3	2.7	Chr03_3985130- Chr03_4006689	22.87	0.04	IR64	7.3
		8	<i>qABB-8</i>	3	2.4	Chr08_27811802- Chr08_27830287	93.85	-0.04	Azucena	6.5
		11	<i>qABB-11</i>	7.9	7.2	Chr11_30635775- Chr11_30871520	87.15	0.07	IR64	18.4
PXO99 ^A	Philippines	5	<i>qBB-5</i>	3.9	3.2	Chr05_25230006 - Chr05_25230041	93.89	-1.8	Azucena	16.3
		9	<i>qBB-9</i>	4.5	3.9	Chr09_19297877- Chr09_19665133	57.65	1.9	IR64	19.1

Table 2. List of QTL revealed by the inoculation of African and Asian *Xoo* strains on the F₁₁ IR64 x Azucena population.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

$-\log_{10}(p)$: represent the logarithm of the p-value

LOD : Logarithm of odds

PVE : Percentage of Variance Explained

associated with the resistance conferred by *qABB-11* towards the tested African *Xoo*. To this end, we searched for RILs in the F₁₁ population that would be carrying the IR64 alleles at *qABB-11* while maintaining Azucena alleles at the level of the other QTLs targeted by BAI3 and MAI1. Unfortunately, this combination was not found in our population, so we selected lines that were IR64 at *qABB-11*, Azucena at *qABB-4* and *qABB-7*, and Azucena or IR64 at *qABB-3b* and *qABB-8*. Only three RILs corresponding to most of our criteria were available, and were named K11_9009985, K11_9010412 and K11_9010488. As shown in Fig. 4, the selected lines and control plants were next leaf-clip inoculated with the wild-type *Xoo* BAI3, and the BAI3 Δ *talD* derivative mutant strain carrying either an empty vector (EV) or complemented with TalD (*ptalD*). Notably, as expected the three strains produced WT-like symptoms on Azucena with lesion lengths close to 25 cm, indicating that the inactivation of *talD* did not affect BAI3 virulence, as previously seen in Chapter 1.

BAI3 promoted reduced lesions on the two RILs K11_9009985 and K11_9010412, probably because these RILs harbor two resistance loci to BAI3, either *qABB-8* and *qABB-11*, or *qABB-3b* and *qABB-11*, respectively. In contrast, an increase of lesion lengths was observed on K11_9010488, potentially because only the locus of resistance, *qABB-11*, is present in this line (Fig. 4). These results suggest that the combination of *qABB-11* with other resistance loci, such as *qABB-3b* or *qABB-8*, is required for optimal resistance in IR64.

When *talD* was inactivated in the mutant strain BAI3 Δ *talD*, an increase in lesion lengths is observed to certain extent upon the inoculation of IR64, but more strikingly when the RILs K11_9009985 and K11_9010412 were challenged (Fig. 4). *qABB-11* being the only QTL common to IR64 and the two RILs, this raised the hypothesis that TalD might be involved in triggering the *qABB-11* resistance. As a matter of fact, complementation of BAI3 Δ *talD* with a plasmid-borne copy of *talD* restored the capacity of the strain to trigger resistance on IR64, K11_9009985 and K11_9010412 (Fig. 4). Elevated resistance was also observed upon inoculation of K11_9010488 although it only has *qABB-11*. We assume here that the overexpression of *talD* is sufficient to promote such phenotype. Overall, these observations suggest that the locus *qABB-11* is connected to the presence of TalD, but that this locus is not sufficient to promote resistance if it is not induced in combination with either *qABB-3b* or *qABB-8*.

Strains of *Xoo* with RVD variations in TalD are virulent on IR64

Upon a comparative analysis of the TALomes of a dozen of African *Xoo*, Doucouré et al. (2018) showed some strains to encode a new variant of the TalD group that was previously shown to be conserved across MAI1, BAI3, and CFBP1947. In order to test if this one polymorphic RVD variation could affect *Xoo* TalD-dependent avirulence activity on IR64, six Malian *Xoo* strains

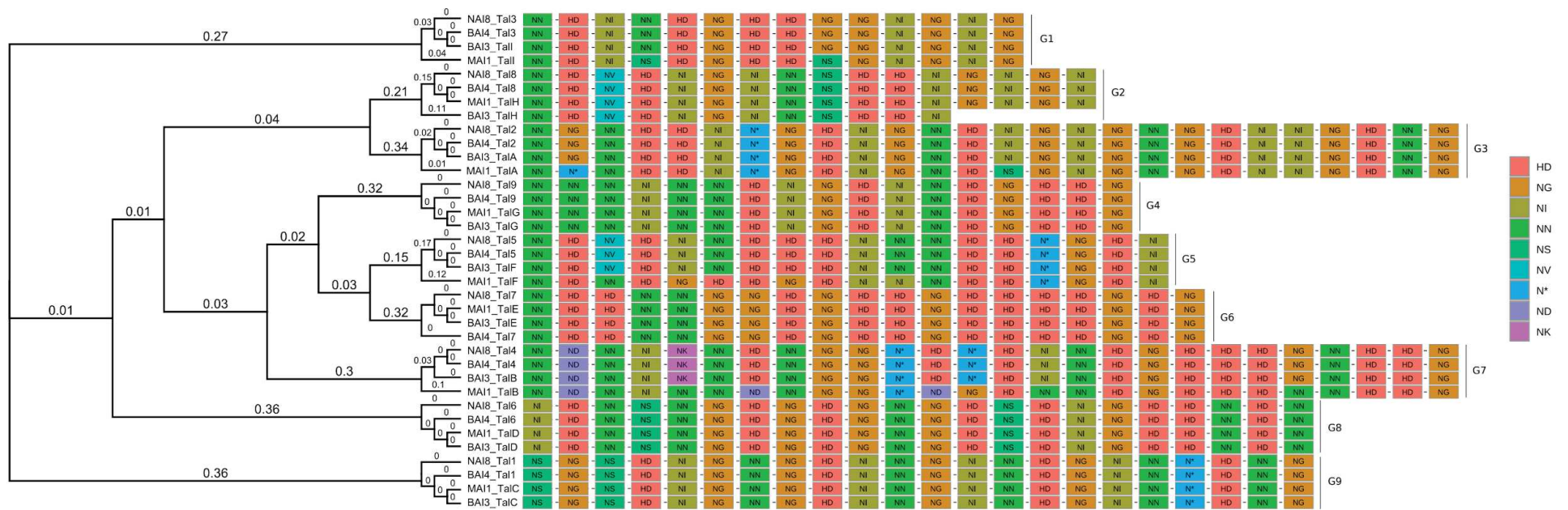


Figure 3. RVD sequences comparison of the TALome of *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3.

FuncTAL was used to estimate distances based on the predicted TALE affinity. The dendrogram on the left shows estimated relationships, where numbers represent the distance between the position weight matrices calculated for each TALE. Central alignments depict RVD strings for each TALE variant, where each box represents a repeat with its RVD. Boxes are colored according to RVD type. Labels on the right indicate the different groups of TALEs.

harboring the TalD new variant were inoculated on IR64 and the Azucena susceptible control (Fig. 5; Table S1). Interestingly our results show that IR64 is susceptible to strains MAI106, MAI145 and MAI99, characterized by an average lesion length ranging from 12 to 16 cm. Two other strains, MAI73 and MAI95 were also able to cause lesions that were significantly longer than the ones caused by *Xoo* MAI1 on IR64. Although still preliminary, these results suggest that a variation in TalD RVDs may affect its avirulence activity. Moreover, in a systematic RFLP-based analysis of the TALome of about 200 *Xoo* strains from Burkina Faso (Diallo et al., in prep), the strain BAI192 was found to be lacking a *talD*-RFLP band and therefore included in our assay. Interestingly, this strain remained fully avirulent on IR64 (Fig. 5), suggesting that other signals in this strain may be at play to trigger resistance in this variety.

Fine mapping of the QTL intervals on chromosomes 7 and 11

In addition to the IR64 x Azucena F₁₁ population, another population of segregating lines composed of 542 F_{2:3} families also deriving from the cross between IR64 and Azucena was made available to us (CIAT, Colombia). The genetic map used for these F_{2:3} families was composed of 1 to 1.5 million SNP markers called from the Nipponbare genome. The imputed collapsed SNP x F_{2:3} families matrix obtained after removing the SNPs located outside of the recombination breakpoints, ended up with 15,745 SNP markers. The SNPs covered 1467.5 cM of the genome with an average inter-marker interval of 0.093 cM. Of these families, 19 were selected owed to the genotype of the corresponding F₂ that exhibited signs of recombination within QTLs *qABB-11* and *qABB-7*. Hence, they were subjected to pathogenicity assays using MAI1 and BAI3 *Xoo* strains.

The average lesion lengths induced by *Xoo* African strains on IR64 and Azucena were respectively of 0.75 cm ± 0.17 and 23.9 cm ± 4.95 with MAI1; and of 5.37 cm ± 3.02 and 28.56 cm ± 5.85 with BAI3. The disease scores of the F₃ families ranged widely, from as low as 0.2 cm to as high as 36.2 cm with MAI1, and from 1 to 40 cm with BAI3 (Table 3).

Twelve and seven families respectively segregating in *qABB-7* and *qABB-11*, as well as the two control varieties IR64 and Azucena, were inoculated with MAI1 and BAI3. Regarding *qABB-7*, the use of the F₃ lines was not helpful to downsize the QTL interval, leaving us with a 300 kb interval. With regard to the seven F₃ families segregating in *qABB-11*, we first considered the recombinants displaying Azucena allele in the QTL interval (left side of Fig. 6A), and assumed that if the resistance source to BAI3 is at the same location of these Azucena alleles, there should be no resistant plants in the F₃. Moreover, as the genotype of these lines for *qABB-8* is the same, this QTL can be ignored for now. These four families all displayed at least four F₃ resistant plants (lesion lengths < 10 cm), meaning that the resistance source is not located where the Azucena alleles are. Plus, as the distribution of lesion lengths in the F₃ progeny is not significantly different between

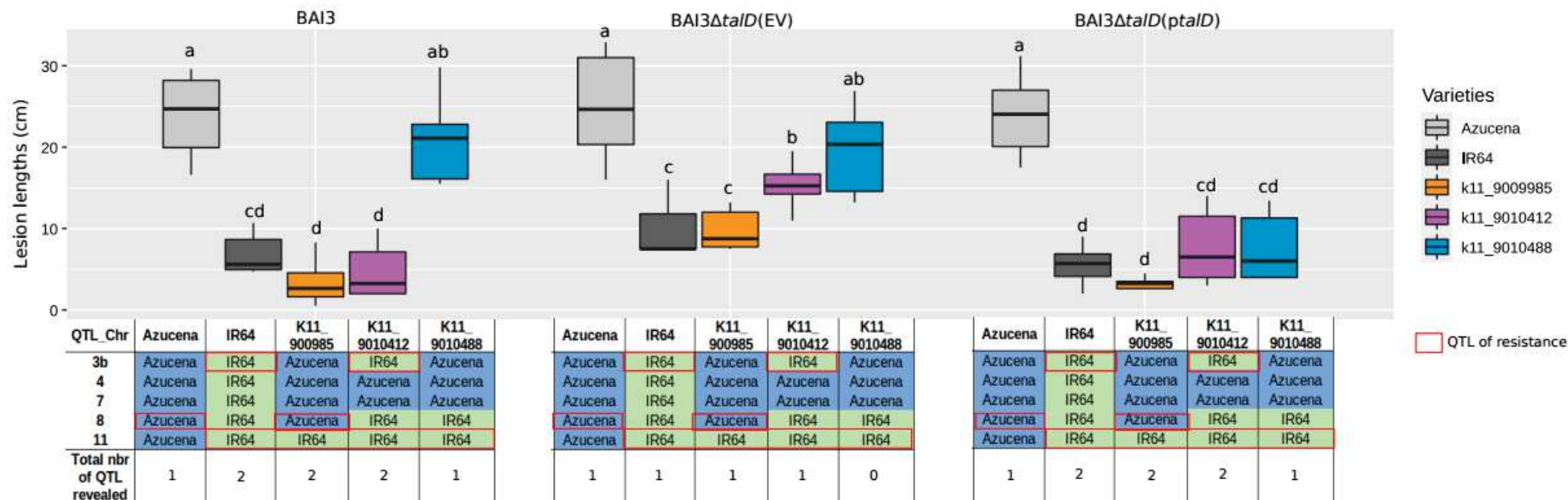


Figure 4. Linkage of an avirulent TALE to the QTL on chromosome 11 conferring resistance to African *Xoo* strains.

Leaves of three RILs from the IR64 x Azucena F_{11} population, selected to be IR64 at the genetic level on at least the QTL on chromosome 11, and of the two control varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3, and with the mutant strain BAI3 Δ talD either carrying an empty vector (EV) or complemented with *talD* (*ptalD*), by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Statistical tests were realised under R software using the non-parametric test KRUSKAL-WALLIS and DUNN TEST. Below, the tables represent the genotype of each QTL for each RIL and the two control varieties, as well as the total number of potentially induced QTL based on the inoculated strain. Highlighted with a red box the presence of resistance QTL in the genome of each RIL and control varieties.

these four families, the two markers with different alleles in the 3009771 F₂ cannot be considered to reduce the QTL interval size. Regarding these results, the size of the QTL interval can be reduced to the six first markers (Fig. 6B).

Next, we looked at the families with IR64 in the QTL interval (right side of Fig. 6A). Comparing the families 3009540 and 3009548 displaying contrasted phenotypes of resistance and susceptibility respectively, the F₂s all share the same allelic content at the QTL on chromosome 3. Moreover, the QTL on chromosome 8 is either completely IR64 – so is not containing the resistance source as it is provided by the Azucena parent – for 3009540 F₂ or heterozygous (containing one copy of the allele with the resistance source) for 3009548 F₂. Regarding the QTL on chromosome 11 which is recombinant, the 3009548 F₂ has eight additional heterozygous markers in comparison with 3009540 F₂. As the QTL on chromosome 3 has a homogeneous allelic content among families, we can ignore it and focus on the QTLs on chromosomes 8 and 11. In the 3009540 F₃s, we observe many resistant plants and some susceptible plants, while in the 3009548 family very few plants are resistant and many more are susceptible. Here we observe a loss of resistance in correlation with the increase of heterozygous markers in the QTL on chromosome 11. Therefore, we can assume that the source of resistance at the *qABB-11* QTL is located within the interval defined by the eight markers in 3009548 that differ from 3009540. By intersecting the results obtained with the recombinant families with Azucena and those with IR64, we could narrow the QTL interval down to 25 kb ranging from Mrk 3 to Mrk 6 (Fig. 6B).

Synteny of QTL intervals and gene annotation

The genomic region of *qABB-7*, which is of 300 kb, and of *qABB-11*, initially of 250 kb, were aligned between the resistant and susceptible variety through the use of the Synteny View tool of the Rice Genome Hub Platform (Fig. S2, (Droc et al. 2019)). Despite the fact these regions are syntenic and include homologous genes, the Azucena genome presents more genes in these intervals than the IR64 genome. The interval of *qABB-7* displays 52 genes for Azucena while for IR64 there are 39 genes, and for *qABB-11*, 148 genes are found for Azucena, in contrast to 108 for IR64 (Table S2). Regarding the reduced interval of 25 kb for *qABB-11*, only four candidate genes could be reported, G1 to G4, each respectively coding for an RNA recognition domain-containing protein, a RHOMBOID-like protein, an expressed protein, and a GRAS domain-containing protein (Fig. 6B). The amino-acid sequence of each gene was aligned between the genome of IR64, Azucena and Nipponbare rice varieties with the program Clustal Omega (1.2.4). The protein encoded by G2 is the only one which is completely conserved, and the protein encoded by G1 is the one with most differences, between the three genomes (Fig. S3). On the opposite, from a promoter point of view, considering the 1000 bp upstream of these four genes, the G2 promoter is the less conserved,

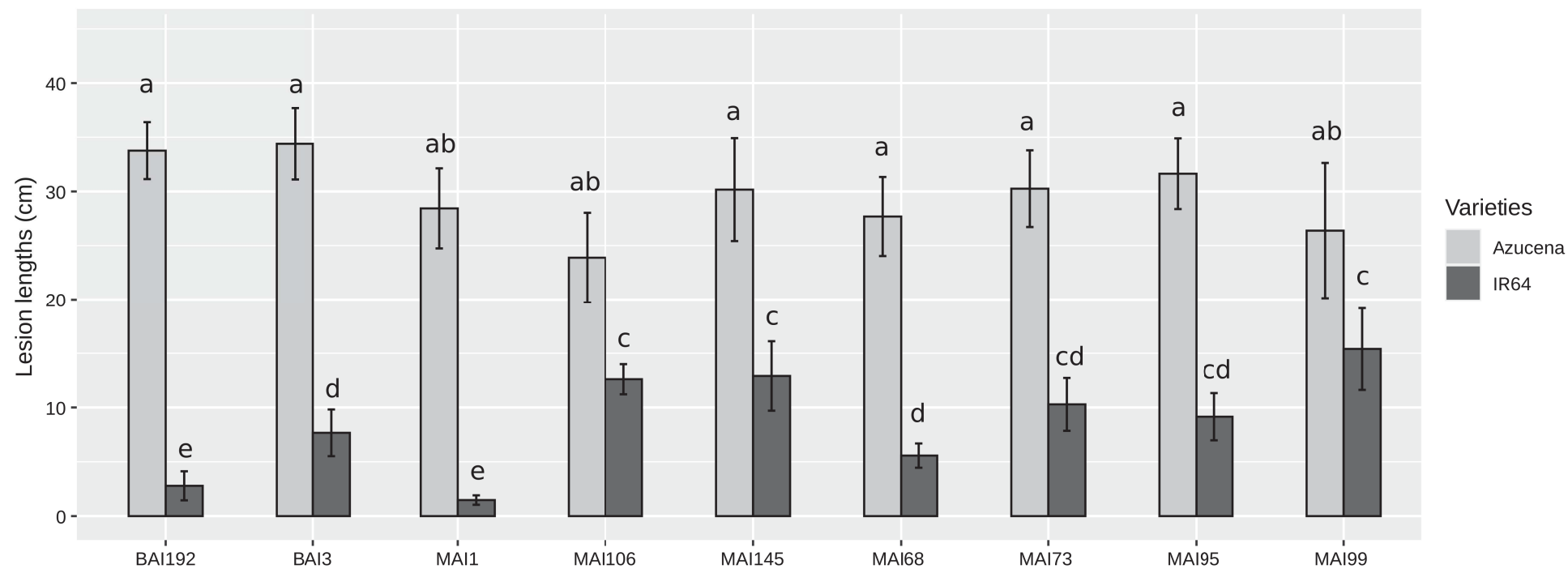


Figure 5. Evaluation of the resistance of IR64 upon inoculation of a set of African *Xoo* strains displaying diverse *talD* allelic variants.

Leaves of the rice varieties IR64 and Azucena were leaf-clip inoculated with the reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and a set of relevant African *Xoo* strains (Table S1). Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Statistical tests were realized under R software using the non-parametric test KRUSKAL-WALLIS and DUNN TEST.

Generation of RILs from the IR64 x Azucena Population	<i>Xoo</i> strains	Lesion lengths (cm) on		
		IR64	Azucena	RILs
F ₃	MAI1	0.8 ± 0.2	23.9 ± 4.9	0.2 to 36.2
	BAI3	5.4 ± 3.0	28.6 ± 5.9	1 to 40

Table 3. Lesion lengths induced by African *Xoo* on recombinant inbred lines of the F₃ generation and their parents.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

between IR64 and Azucena or Nipponbare, with 25% of nucleotide polymorphism, and the G1 promoter is the most conserved with only 1% of nucleotide polymorphism. Regarding the G3 and G4 promoters, 6% and 4% of nucleotide polymorphism is observed, respectively.

Discussion

In this study, using a high number of SNP markers in the IR64 genome (12,506 SNP markers) and analysing a F₁₁ and a F_{2:3} IR64 X Azucena populations, we were able to down size the previously identified QTL intervals of *qABB-7* and *qABB-11* (Djedatin *et al.* 2016), from 10 Mb to 300 kb, and from 1 Mb to 25 kb, respectively. Moreover, the LOD score of these QTLs were increased from 16 to 17.7 and from 5.7 to 7.2, for *qABB-7* (MAI1) and *qABB-11* (BAI3) respectively. The increase of LOD score values reinforces the reliability of the position of these QTLs, and having downsized their interval we can assume that the underlying resistance loci are very close to be discovered. Regarding the resistance loci revealed by MAI1, two new QTLs, *qABB-3a* and *qABB-4*, were identified in the IR64 parent in this study. Unfortunately, among the QTLs already reported by Djedatin *et al.* (2016), the one on chromosome 1 explaining 13.4% of the variance observed and with a LOD score of 5, was not found even if the threshold for the LOD score was lowered to 2. It is possible that the reduced number of SSR markers (226) used in this study, compared to the 12,506 SNP markers in ours, has led to the identification of a false positive.

In this work, shared, pathogen lineage-specific, but also novel QTLs of resistance to BLB were highlighted. Indeed, in previous work Djedatin *et al.* also reported the identification of *qBB-8* (Azucena donor) as effective against the Philippine *Xoo* strain PXO86, which co-localizes with *qABB-8*, the QTL that confers resistance to the African *Xoo* strain BAI3 on chromosome 8. In the same way, herein *qBB-9* that confers resistance to the Asian *Xoo* strain PXO99^A co-localizes with *qABB-9* (IR64 donor), a previously identified QTL effective against the African *Xoo* strain NAI8. Despite the fact that African *Xoo* strains are less studied than the Asian ones, and hence more resistance sources are known against the latter, our study sheds light on novel resistance sources against African *Xoo* that could also be efficient against Asian *Xoo*. These results are a significant step forward in the search for new resistance sources against African *Xoo*, and suggest that Asian and African *Xoo* share more than virulence targets, such as the *OsSWEET* genes, and induce some resistance mechanisms in common.

Among the TALEs of African *Xoo* used in this study, TalD originally thought to be monomorphic (Tran *et al.* 2018), appeared to be variable among some Malian strains with one identified polymorphic RVD (Doucouré *et al.* 2018), or simply missing as in strain BAI192 (Diallo *et al.*, in

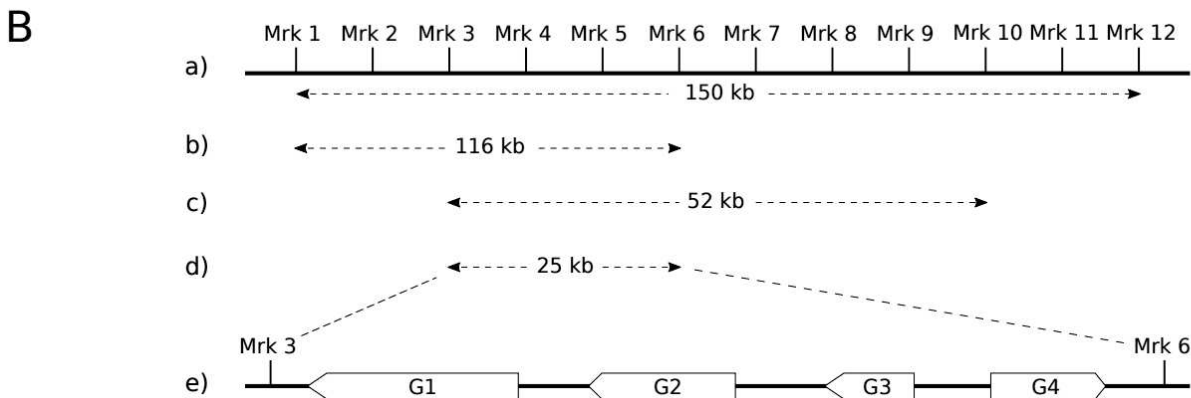
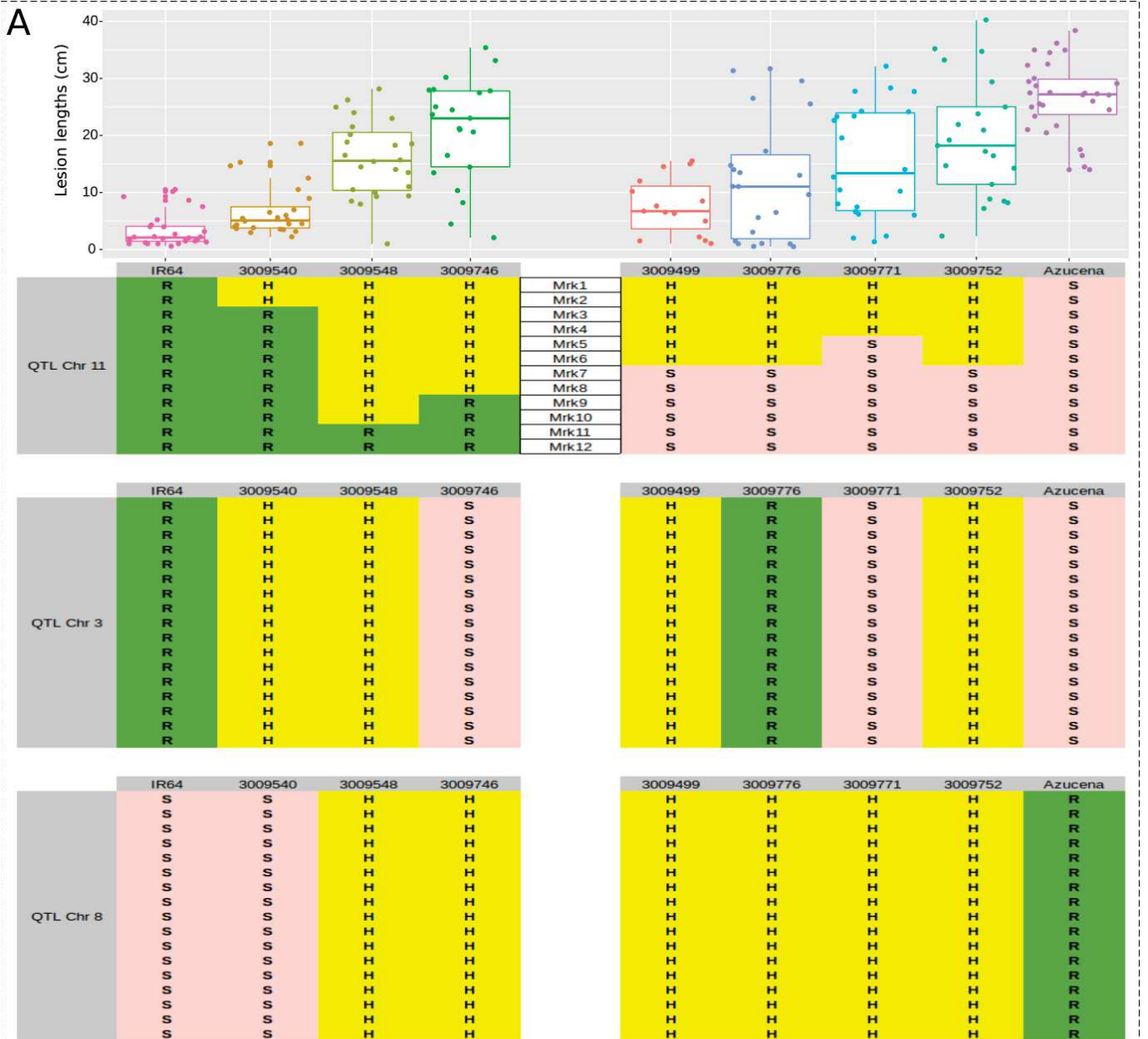


Figure 6. Fine mapping of the QTL interval on chromosome 11.

(A) Leaves of seven F_{2:3} families: IR64 x Azucena population, selected to be recombinant in the interval of QTL on chromosome 11, and of the two control varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Below, the tables represent the genotype of the F₂ parents at each marker position of each QTL evidence by BAI3, *qABB-11*, *qABB-3b* and *qABB-8* for the seven families and the two control varieties IR64 and Azucena. Boxes in green with an "R" represent resistant alleles, in light red with an "S" represent susceptible alleles, and in yellow with an "H" represent heterozygous alleles. (B) a) Physical map of the interval of *qABB-11*, based on the reference genome of Nipponbare. Represented markers are not at equal distance in base pair from each other. b) Reduction of the physical distance of the QTL interval through the use of the F_{2:3} families recombinant with Azucena. c) Reduction of the physical distance of the QTL interval through the use of the F_{2:3} families recombinant with IR64. d) By intersecting the results obtained with the recombinant families with Azucena and these with IR64, the QTL interval is narrowed to 25 kb ranging from Mrk 3 to Mrk 6. e) Predicted genes (G1 to G4) laying in the 25 kb overlapped region in the Nipponbare genome.

prep). Recombination has been shown to be one of the most common pathways in the evolution of *tal* genes (Denancé et al., 2018; Erkes et al., 2017; Ruh et al., 2017), and since no data have been reported on the virulence activity of TalD to date, we hypothesize that this effector is conserved in *Xoo* to promote *tal* genetic diversity through recombination events. The common predicted targets between TalD of MAI1 and BAI3, and TalD of other Malian strains were evaluated among the 500 first targets found by Talvez software (Perez-Quintero et al. 2013) in the Nipponbare genome, and 80% of them are conserved. If it appears that the resistance conferred by TalD of MAI1 and BAI3 is activation domain (AD)-dependent and hence based on the induction of an *E* gene, it means that 20% of candidate genes in *qABB-11*, are specific to the TalD version of MAI1/BAI3. Based on this hypothesis, the list of candidate *E* genes in *qABB-11* could be drastically reduced.

In this study, through the use of F₁₁ and F_{2:3} IR64 x Azucena populations, QTLs of resistance were evidenced and their intervals reduced. Moreover, we have shown that TalD may be involved in the elicitation of some resistance responses implying *qABB-11* locus. We could therefore use the DNA-binding predictability of TALEs to identify a potential *E* gene in *qABB-11*, but also for *qABB-7*. Therefore, combining fine mapping with others approaches, as transcriptomics and bioinformatic EBE prediction programs to identify resistance genes would be interesting, as already done in the past. For example recently, Luo *et al.* combined fine mapping approach with RNA sequencing and gene editing approaches, leading to the isolation of the *E* gene *Xa7* (Luo et al. 2021).

Previous work by Djedatin et al. (2016), revealed that *qABB-11*, which is effective against the four African *Xoo* strains MAI1, BAI3, NAI8 and BAI4, partially overlaps with one QTL that confers resistance to the Asian *Xoo* strain PXO61, containing the known *R* gene *Xa4* (Djedatin et al., 2016). Through the screening of an IR24 x IRBB4 F₂ population with the *Xoo* strains PXO61 and BAI3, Djedatin et al. (2016) show that the potential gene promoting resistance against BAI3 is recessive, unlike *Xa4* which is dominant against PXO61, which would then clarify there are two different *R* genes in this QTL.

Previously we shown that two QTL, *qABB-11* and *qABB-3b*, are revealed by BAI3 in IR64. If there are some interactions between these two loci, the screening of the IR24 x IRBB4 population by Djedatin et al. would not have taken them into account because neither IR24 nor IRBB4 contains the resistance locus *qABB-3b*, explaining why the segregation ratio found for lines inoculated with BAI3 suggests the involvement of a recessive gene at the locus *qABB-11* (Djedatin et al., 2016). Nonetheless, the QTL interactions between *qABB-11* and *qABB-3b* are still unknown. With that in mind, the screening of an IR64 x Azucena F_{2:3} population with BAI3 seemed more appropriate to shed light on the potential interactions between these QTLs.

Regarding the experiment with the three F₁₁ lines used to evaluate the role of TalD in *qABB-11* resistance, the inoculation of the BAI3 Δ *talD* mutant complemented with *talD* upon the line 9010488 caused resistance. While the inoculation of the wild-type strain BAI3 on this same line, containing only the resistance QTL *qABB-11*, promoted disease. Herein when *talD* was over-expressed a dose effect was observed promoting resistance on this line. With that in mind, we assume that the resistance phenotype depending on *qABB-11*, is related to the amount of resistance allele, meaning that plants which are heterozygous at this QTL display an intermediate phenotype between the resistant and susceptible parent.

Regarding the four candidate genes in the 25 kb QTL interval on chromosome 11, the protein encoded by G1, an RNA recognition domain-containing protein, seems to be very different between the resistant and susceptible varieties, IR64 and Azucena or Nipponbare, respectively. Recently an RRM (RNA-recognition motif) protein was identified to promote rice resistance to blast disease, when associated with an NLR protein. When present together, these two proteins bind DNA and function as unconventional transcription factors at the promoters of the defense genes *OsWAK14* and *OsPAL1* (Zhai et al. 2019). Furthermore, in *Arabidopsis thaliana* a putative RNA binding protein was reported to positively regulate salicylic acid-mediated immunity through the inoculation of *P. syringae* pv. *tomato* (Qi et al. 2010). In this light, the G1 gene holds promise as a novel type of BLB resistance gene.

Conclusions & Perspectives

In this study we report the identification of shared, specific and novel resistance QTLs to African and Asian *Xoo* strains. Comparative analysis of the TALome in a diversity of African *Xoo* strains and phenotypic characterization allowed to correlate the resistance conferred by the QTL on chromosome 11, *qABB-11*, to the presence of TalD in BAI3. To go further, transcriptomic analyses of rice challenged with the wild-type strains MAI1 and BAI3, and with the mutant derivative strain BAI3 Δ *talD* transformed with an empty vector or complemented with *talD*, could be undertaken. These analyses would help to first, identify and confirm potential candidate executor genes in the QTL on chromosome 11, and on the other hand to evidence common and specific pathways of resistance in IR64 induced by MAI1 and BAI3.

Material and Methods

Bacterial strains and growth conditions

The *Xoo* strains used in this study are listed in the Table S1. *Xoo* strains were cultivated at 28°C on PSA medium (10 g peptone, 10 g sucrose, 1 g glutamic acid, 16 g agar, l⁻¹ H₂O). Rifampicin, kanamycin and gentamicin were added when appropriate to the medium at a final concentration of 100 µg.ml⁻¹ for each.

Mapping plant populations and growth conditions

The reference mapping population used to identify and map the BLB resistance QTLs consisted in 210 recombinant inbred lines (RILs) of F₁₁ generation from the cross between the *indica* cultivar IR64 (resistant parent) and the tropical *japonica* Azucena landrace (susceptible parent). This population derives from the IR64 x Azucena F₈ population developed by IRD (France), which was advanced to F₁₁ and used as one of the 10 sub-populations of a Nested Association Mapping (NAM) design (Fragoso et al., 2017). The second mapping population, used to reduce the size of the QTLs on chromosome 7 and 11, consisted in 542 F_{2:3} families resulting from an F₁ hybrid between IR64 and Azucena parents. All plant experiments were performed under greenhouse conditions under cycles of 12 h of light at 28°C and 80% relative humidity (RH) and 12 h of dark at 25°C and 70% RH.

Plant inoculations

Leaves of 5-week-old plants were inoculated by leaf-clipping with a bacterial suspension of an optical density at 600 nm (OD₆₀₀) of 0.2. At least three and eight plants of each line, and of IR64 and Azucena, respectively, were inoculated and lesion lengths were scored 15 days post inoculation (dpi). The experiments were reproduced three times with the mapping populations of F₁₁ and F₃ generation, and one time for the screening of African *Xoo* strains on IR64 and Azucena.

Statistical analysis

A genetic linkage map comprising 12,506 SNP markers and constructed from the IR64 x Azucena F₁₁ population was used for the mapping of resistance QTLs to *Xoo*. A preliminary QTL analysis was carried using analysis of variance (F-test), with marker genotypes as the factors, using MapDisto v. 2.1 software (Lorieux 2012). For subsequent QTL analyses, data files were prepared using the Export map and data function of MapDisto. Analyses of distribution of the phenotypic traits as well as QTL detection were performed using the Qgene v. 4.4.0 program (Nelson 2005, <http://www.qgene.org>) and QTL IciMapping v. 4.2 program (Meng et al., 2015). Different methods were compared such as Single-marker regression (SMR), Simple interval mapping (SIM), and

Inclusive Composite interval mapping (ICIM). For ICIM, a stepwise regression cofactor selection was used. The LOD score statistic was used for all methods in order to make the results comparable. Empirical thresholds to declare presence of a QTL were obtained using the resampling by permutation method, performing 10,000 (SMR) or 1,000 (ICIM) iterations for each trait/chromosome combination (log-likelihood of odds (LOD) score of 2.5).

References

- Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- Bossa-Castro AM, Tekete C, Raghavan C, et al (2018) Allelic variation for broad-spectrum resistance and susceptibility to bacterial pathogens identified in a rice MAGIC population. *Plant Biotechnol J* 16:1559–1568. <https://doi.org/10.1111/pbi.12895>
- Djedatin G, Ndjiondjop MN, Mathieu T, et al (2011) Evaluation of African cultivated rice *Oryza glaberrima* for resistance to bacterial blight. *Plant Dis* 95:441–447. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0558>
- Djedatin G, Ndjiondjop MN, Sanni A, et al (2016) Identification of novel major and minor QTLs associated with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (African strains) resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice* 9:. <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0090-9>
- Droc G, Dereeper A, Ruiz M, et al (2019) The south green rice genome hub.
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Huang S, Antony G, Li T, 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. <https://doi.org/10.1111/TPJ.13164>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Jiang N, Yan J, Liang Y, et al (2020) Resistance Genes and their Interactions with Bacterial Blight/Leaf Streak Pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in Rice (*Oryza sativa* L.)—an Updated Review. *Rice* 13:. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0358-y>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>

- Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Lorieux M (2012) MapDisto: Fast and efficient computation of genetic linkage maps. *Mol Breed* 30:1231–1235. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9706-y>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Mew TW (1992) Changes in Race Frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Response to Rice Cultivars Planted in the Philippines. *Plant Dis* 76:1029. <https://doi.org/10.1094/PD-76-1029>
- Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698. <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>
- Qi Y, Tsuda K, Joe A, et al (2010) A putative RNA-binding protein positively regulates salicylic acid-mediated immunity in *Arabidopsis*. *Mol Plant-Microbe Interact* 23:1573–1583. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-10-0106>
- Quibod IL, Atieza-Grande G, Oreiro EG, et al (2020) The Green Revolution shaped the population structure of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *ISME J* 14:492–505. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0545-2>
- Römer P, Recht S, Strauß T, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03217.X>
- Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>

- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Vera Cruz C, Leach JE (2012) Controlling rice bacterial blight in Africa: Needs and prospects. *J Biotechnol* 159:320–328. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.09.020>
- Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>
- Wonni I, Hutin M, Ouédraogo L, et al (2016) Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa. *Rice Res Open Access* 4:1–8. <https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Zhai K, Deng Y, Liang D, et al (2019) RRM Transcription Factors Interact with NLRs and Regulate Broad-Spectrum Blast Resistance in Rice. *Mol Cell* 74:996-1009.e7. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2019.03.013>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>

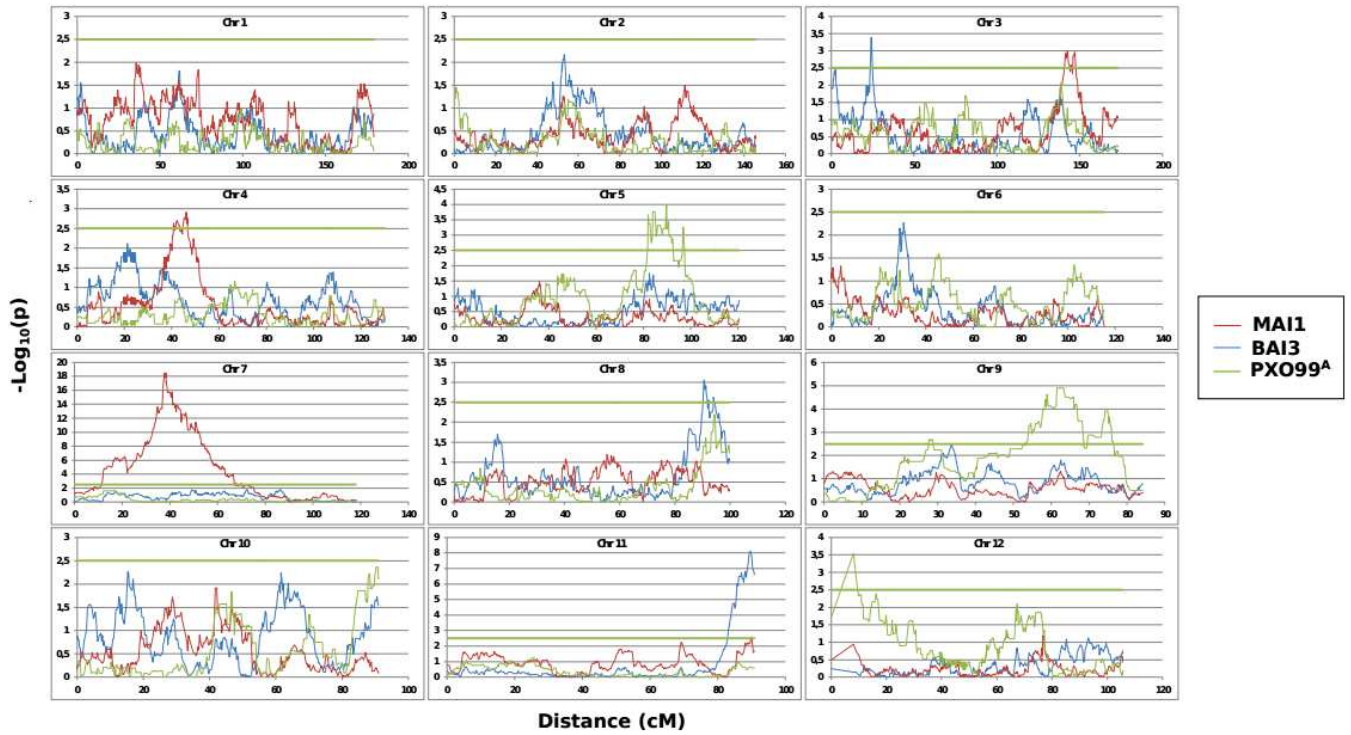


Figure S1. Graphic representation of the QTL peaks revealed by the inoculation of MAI1, BAI3 and PXO99^A.

Representation of the QTL peaks, for MAI1, BAI3 and PXO99^A *Xoo* strains, in $-\text{Log}_{10}(p)$ over the twelve chromosomes in centiMorgan (cM). The green line represents the threshold of 2.5 for QTL detection.

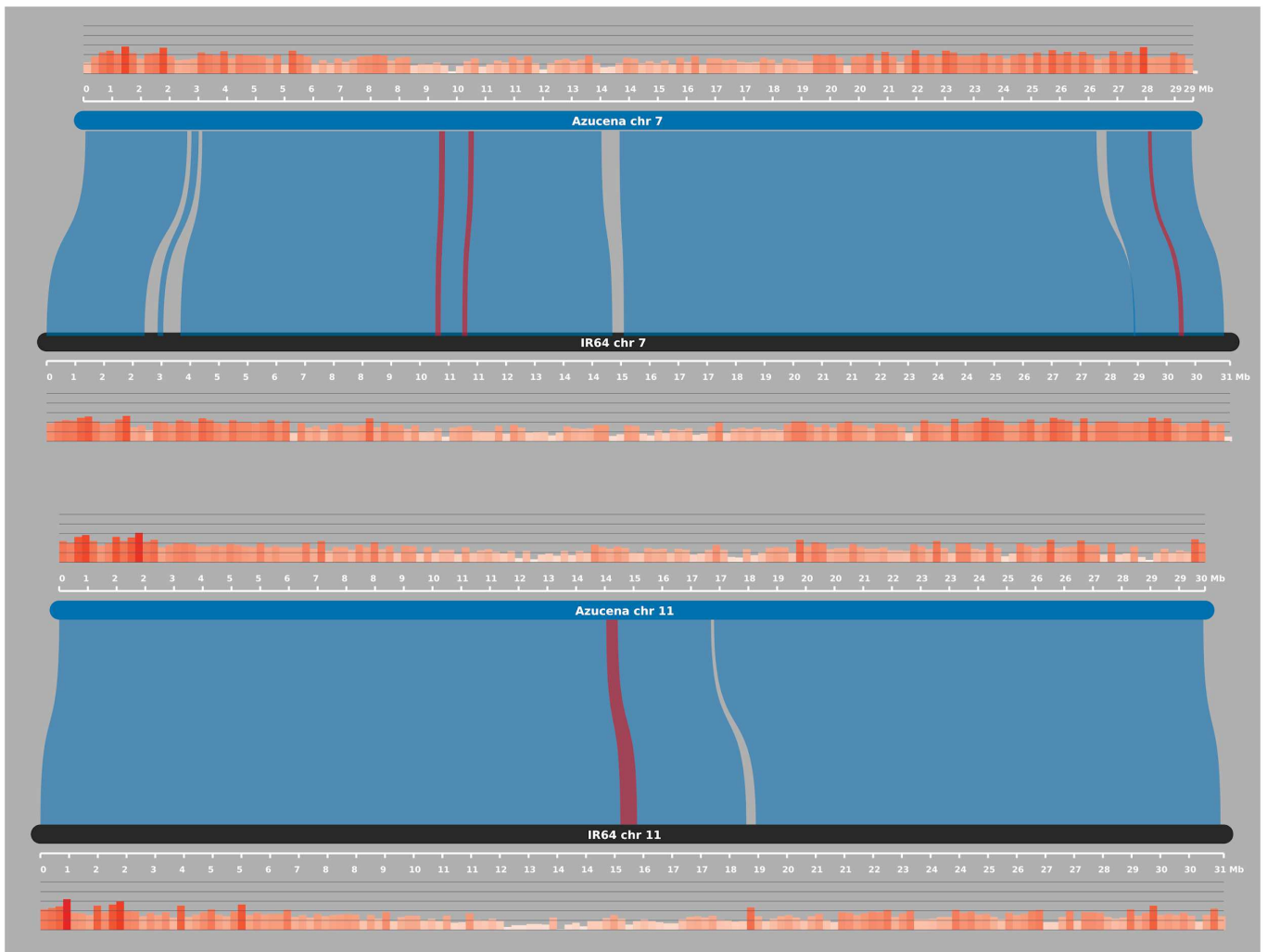


Figure S2. Synteny of chromosomes 7 and 11 between Azucena and IR64.

Synteny Viewer (Rice Genome Hub platform; Droc et al. 2019) was used to compare the synteny of the chromosomes a) 7 and b) 11, between the rice varieties IR64 and Azucena. The chromosomes in blue and grey represent the Azucena and IR64 chromosomes, respectively. Aligned regions in blue and red are regular and reversed regions, respectively. Scale and histogram bars above and below each chromosome represent the length in Mb and the gene density along the chromosome, respectively.

IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCADKDEGAASVLFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCADKDEGAASVLFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCADKDEGAASVLFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP *****	60 60 60	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	-MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT *****	59 56 56
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMNRKMLSGREISVAFVOTRKRPEE VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMNRKMLSGREISVAFVOTRKRPEE VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMNRKMLSGREISVAFVOTRKRPEE *****	120 120 120	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	SSPDSTGEPSSRVIIIGSAGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPDNDVGLPITLRRRRR SSPDSTGEPSSRVIIIGSAGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPDNDVGLPITLRRRRR SSPDSTGEPSSRVIIIGSAGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPDNDVGLPITLRRRRR *****	119 116 116
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRSYPKTKYDRQYADIGRRLHLIVS MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRSYPKTKYDRQYADIGRDETTPPAD MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRSYPKTKYDRQYADIGRDETTPPAD *****	180 180 180	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	LLLDPLIRVTGLVAPGSPVPRWIGCQLACPSRRCIWCVESTSCRCRRHRPPSPCSRLEAGK LLLDPLIRVTGLVAPGSPVPRWIGCQLACPSRRCIWCVESTSCRCRRHRPPSPCSRLEAGK LLLDPLIRVTGLVAPGSPVPRWIGCQLACPSRRCIWCVESTSCRCRRHRPPSPCSRLEAGK *****	179 155 155
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	D--PGLCAGHPGHLQGNLILAHVPIILFISMTLEHGHALLPQEGKMTSMLPRGRS SERPWALCRSPRSPGQSS-----HSRSYSRSHSLHLDH-----ARTRSCSPAGRQ SERPWALCRSPRSPGQSS-----HSRSYSRSHSLHLDH-----ARTRSCSPAGRQ *****	237 228 228	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	RKRERGG 186 ----- 155 ----- 155	
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	TKQN-----H-----QDR-QKDDMI CADPILLINIMNARMITMVMRHLRMLVSDPL DDQYASPORKEHQTKSSQGTGKDDHRRSYTYEYNECQDADN-G-----FDETPPAPDGRS DDQYASPORKEHQTKSSQGTGKDDHRRSYTYEYNECQDADN-G-----FDETPPAPDGRS *****	283 284 284	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDDDLTPFISRMLMEDDIDDKFFQY 60 MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDDDLTPFISRMLMEDDIDDKFFQY 60 MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDDDLTPFISRMLMEDDIDDKFFQY 60 *****	60 60 60
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	CMAGHPGHLQDGLIVIHVPLNLSVAMLDHGHALLPQEGKITS--LLPHRE-GRSTK SVLGRSPRSPGGRSHCHSHSRSPELRGHARSRS CSPATGRQDNQSTSPORREKHQTK SVLGRSPRSPGGRSHCHSHSRSPELRGHARSRS CSPATGRQDNQSTSPORREKHQTK *****	340 344 344	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTIELS 120 FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTIELS 120 FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTIELS 120 *****	120 120 120
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	QNHQDRK-NMMSADPTLLNIMI--AGMLTMVIMRRRRLMVSDPGHAG-HPSHLQD SSGQAKEHDEKRSTYTYEYNDRRDADNGYD-----TPPAPDGRSWSALGRSPSPSP SSGQAKEHDEKRSTYTYEYNDRRDADNGYD-----TPPAPDGRSWSALGRSPSPSP *****	396 397 397	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP 180 QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP 180 QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP 180 *****	180 180 180
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	GLIF IHT---RVALLNSVAIDLGHALLPPEKEMTSMPLHRRRSSKONHDLR--- GRSHFHSRHSRSPRLRGRAR---SRSCSPAGRQDDQYASPORKEEQTKSSROTKE GRSHFHSRHSRSPRLRGRAR---SRSCSPAGRQDDQYASPORKEEQTKSSROTKE *****	449 453 453	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV 240 TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV 240 TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV 240 *****	240 240 240
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	-KNMRSDEPALLNIAIIVMLSSVMMSKTPQSAEWGSKLGTVOVINTAASN HDEERRSCTPEYSDR---RDAFIGHDETPPSAEWGSKLTVOVINTAASN HDEERRSCTPEYSDR---RDAFIGHDETPPSAEWGSKLTVOVINTAASN *****	501 502 502	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDEAEKARNGGGAGRAARAAGAV 300 PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDEAEKARNGGGAGRAARAAGAV 300 PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDEAEKARNGGGAGRAARAAGAV 300 *****	300 300 300
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	MKPSPAANLDVREPRPPVPHRPGSLRARPYYRWTPIVAAIALSCVVVFLVSMYV 60 MKPSPAANLDVREPRPPVPHRPGSLRARPYYRWTPIVAAIALSCVVVFLVSMYV 60 MKPSPAANLDVREPRPPVPHRPGSLRARPYYRWTPIVAAIALSCVVVFLVSMYV 60 *****	60 60 60	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLACTGS 360 VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLACTGS 360 VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLACTGS 360 *****	360 360 360
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	NDCPRNSGDCAAAGLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQGWRLITC 120 NDCPRNSGDCAAAGLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQGWRLITC 120 NDCPRNSGDCAAAGLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQGWRLITC 120 *****	120 120 120	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY 420 QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY 420 QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY 420 *****	420 420 420
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQFGFVIRIGLVYLISGLGSLMSALFIRSSISVGA 180 IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQFGFVIRIGLVYLISGLGSLMSALFIRSSISVGA 180 IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQFGFVIRIGLVYLISGLGSLMSALFIRSSISVGA 180 *****	180 180 180	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	GFQWPGLFKCLSEREGGPEVIRITGIDFPQGFRRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPRFQ 480 GFQWPGLFKCLSEREGGPEVIRITGIDFPQGFRRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPRFQ 480 GFQWPGLFKCLSEREGGPEVIRITGIDFPQGFRRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPRFQ 480 *****	480 480 480
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG 240 SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG 240 SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG 240 *****	240 240 240	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	AIAAKWETVRREDLHLDREEE--EGEEVVLVNLHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI 538 AIAAKWETVRREDLHLDREEEEEEVVLVNLHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI 540 AIAAKWETVRREDLHLDREEEEEEVVLVNLHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI 540 *****	538 540 540
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	FLLGFVMIIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL 300 FLLGFVMIIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL 300 FLLGFVMIIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL 300 *****	300 300 300	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG 598 RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG 600 RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG 600 *****	598 600 600
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLVADA 360 LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLVADA 360 LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLVADA 360 *****	360 360 360	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	RCALNVIACEGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVELVDRKVKLHKDFVI 658 RCALNVIACEGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVELVDRKVKLHKDFVI 660 RCALNVIACEGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVELVDRKVKLHKDFVI 660 *****	658 660 660
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	TQDKINQLCNQLCS 374 TQDKINQLCNQLCS 374 TQDKINQLCNQLCS 374 *****	374 374 374	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKLSF 690 DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKLSF 692 DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKLSF 692 *****	690 692 692

Figure S3. Amino-acid alignment of the four candidate genes in the overlapped region.

Amino-acid alignment of the four candidate genes between the rice genomes of IR64, Azucena and Nipponbare varieties was realized under Clustal Omega platform (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Dashe significates a missing amino-acid, "*" indicates that the amino-acid is conserved, "." indicates that the amino-acids differ and belong to a group with weak similarity, and ":" indicates that the amino-acids differ but belong to a group with strong biochemical similarity. The criterion for distinguishing strong from weak similarities is as follows: strong similarity corresponds to a Gonnet PAM250 MATRIX score between amino acids of greater than 0.5, while weak similarity corresponds to a score of 0.5 or less.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>			
PXO99 ^A	Philippines strain		Adam Bogdanove Laboratory
MAI1	Malian strain	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3	Burkinabe strain	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3 Δ <i>talD</i> (EV)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	(Lachaux et al. submitted)
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i>)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	(Lachaux et al. submitted)
BAI192	Burkinabe strain		Diallo et al., in prep
MAI73	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI95	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI68	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI145	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI106	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI99	Malian strain		Doucouré et al., 2018
Plasmids			
pSKX1			Streubel et al., 2013

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

Strains highlighted in bold were only inoculated on the rice varieties IR64 and Azucena.

	Chromosome	ID_IR64	Name/function
1	7	<i>OsIR64_07g008410</i>	SurE domain-containing protein
2	7	<i>OsIR64_07g008420</i>	Conserved hypothetical protein
3	7	<i>OsIR64_07g008430</i>	expressed protein
4	7	<i>OsIR64_07g008440</i>	Zeta-carotene desaturase
5	7	<i>OsIR64_07g008450</i>	cytochrome b-c1 complex subunit 7 Putative expressed
6	7	<i>OsIR64_07g008460</i>	WD_REPEATS_REGION domain-containing protein
7	7	<i>OsIR64_07g008470</i>	Os07g0205500 protein
8	7	<i>OsIR64_07g008480</i>	expressed protein
9	7	<i>OsIR64_07g008490</i>	Os07g0205700 protein
10	7	<i>OsIR64_07g008500</i>	Cyclin-like protein
11	7	<i>OsIR64_07g008510</i>	expressed protein
12	7	<i>OsIR64_07g008520</i>	Putative 13 kDa prolamin C
13	7	<i>OsIR64_07g008530</i>	Os07g0206600 protein
14	7	<i>OsIR64_07g008540</i>	Methyltransferase
15	7	<i>OsIR64_07g008550</i>	Os07g0206800 protein
16	7	<i>OsIR64_07g008560</i>	expressed protein
17	7	<i>OsIR64_07g008570</i>	Protein kinase domain-containing protein
18	7	<i>OsIR64_07g008580</i>	Conserved hypothetical protein
19	7	<i>OsIR64_07g008590</i>	Conserved hypothetical

	Chromosome	ID_Azucena	Name/function
1	7	<i>OsAzucena07g009950</i>	SurE domain-containing protein
2	7	<i>OsAzucena07g009960</i>	Putative transposable element
3	7	<i>OsAzucena07g009970</i>	Hypothetical protein
4	7	<i>OsAzucena07g009980</i>	Zeta-carotene desaturase
5	7	<i>OsAzucena07g009990</i>	expressed protein
6	7	<i>OsAzucena07g010000</i>	Putative Cytochrome b-c1 complex subunit 7
7	7	<i>OsAzucena07g010010</i>	expressed protein
8	7	<i>OsAzucena07g010020</i>	cDNA clone:J013072E21 full insert sequence
9	7	<i>OsAzucena07g010030</i>	Os07g0205500 protein
10	7	<i>OsAzucena07g010040</i>	expressed protein
11	7	<i>OsAzucena07g010050</i>	Os07g0205700 protein
12	7	<i>OsAzucena07g010060</i>	NA
13	7	<i>OsAzucena07g010070</i>	Cyclin-like protein
14	7	<i>OsAzucena07g010080</i>	expressed protein
15	7	<i>OsAzucena07g010090</i>	13 kDa prolamin C
16	7	<i>OsAzucena07g010100</i>	13 kDa prolamin C
17	7	<i>OsAzucena07g010110</i>	Os07g0206600 protein
18	7	<i>OsAzucena07g010120</i>	Methyltransferase
19	7	<i>OsAzucena07g010130</i>	Os07g0206800 protein

			protein
20	7	<i>OsIR64_07g008600</i>	S5 DRBM domain-containing protein
21	7	<i>OsIR64_07g008610</i>	Putative Polygalacturonase
22	7	<i>OsIR64_07g008620</i>	40S ribosomal protein S15a-1
23	7	<i>OsIR64_07g008630</i>	Putative Polygalacturonase
24	7	<i>OsIR64_07g008640</i>	Cellulose synthase
25	7	<i>OsIR64_07g008650</i>	Remorin_C domain-containing protein
26	7	<i>OsIR64_07g008660</i>	expressed protein
27	7	<i>OsIR64_07g008670</i>	Putative Myosin-like protein
28	7	<i>OsIR64_07g008680</i>	MFS domain-containing protein
29	7	<i>OsIR64_07g008690</i>	Dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycosyltransferase 48 kDa subunit
30	7	<i>OsIR64_07g008700</i>	Os07g0209100 protein
31	7	<i>OsIR64_07g008710</i>	Conserved hypothetical protein
32	7	<i>OsIR64_07g008720</i>	Conserved hypothetical protein
33	7	<i>OsIR64_07g008730</i>	expressed protein
34	7	<i>OsIR64_07g008740</i>	Putative helicase conserved C-terminal domain containing protein expressed

20	7	<i>OsAzucena07g010140</i>	expressed protein
21	7	<i>OsAzucena07g010150</i>	Os07g0207100 protein (Fragment)
22	7	<i>OsAzucena07g010160</i>	Conserved hypothetical protein
23	7	<i>OsAzucena07g010170</i>	NA
24	7	<i>OsAzucena07g010180</i>	Conserved hypothetical protein
25	7	<i>OsAzucena07g010190</i>	S5 DRBM domain-containing protein
26	7	<i>OsAzucena07g010200</i>	expressed protein
27	7	<i>OsAzucena07g010210</i>	Polygalacturonase
28	7	<i>OsAzucena07g010220</i>	CTD phosphatase-like protein
29	7	<i>OsAzucena07g010230</i>	Polygalacturonase
30	7	<i>OsAzucena07g010240</i>	Os07g0207900 protein
31	7	<i>OsAzucena07g010250</i>	40S ribosomal protein S15a-1
32	7	<i>OsAzucena07g010260</i>	Os07g0208100 protein (Fragment)
33	7	<i>OsAzucena07g010270</i>	Os07g0208200 protein
34	7	<i>OsAzucena07g010280</i>	NAM-associated domain-containing protein

35	7	<i>OsIR64_07g008750</i>	Putative Fe(2+) transport protein 1
36	7	<i>OsIR64_07g008760</i>	C2H2-type domain-containing protein
37	7	<i>OsIR64_07g008770</i>	expressed protein
38	7	<i>OsIR64_07g008780</i>	BZIP domain-containing protein
39	7	<i>OsIR64_07g008790</i>	Exocyst subunit Exo70 family protein
1	11	<i>OsIR64_11g032370</i>	Putative Disease resistance

35	7	<i>OsAzucena07g010290</i>	Cellulose synthase
36	7	<i>OsAzucena07g010300</i>	DNA binding protein-like
37	7	<i>OsAzucena07g010310</i>	NA
38	7	<i>OsAzucena07g010320</i>	expressed protein
39	7	<i>OsAzucena07g010330</i>	expressed protein
40	7	<i>OsAzucena07g010340</i>	Myosin-like protein
41	7	<i>OsAzucena07g010350</i>	MFS domain-containing protein
42	7	<i>OsAzucena07g010360</i>	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit
43	7	<i>OsAzucena07g010370</i>	Os07g0209100 protein
44	7	<i>OsAzucena07g010380</i>	NA
45	7	<i>OsAzucena07g010390</i>	Putative expressed protein
46	7	<i>OsAzucena07g010400</i>	NA
47	7	<i>OsAzucena07g010410</i>	NA
48	7	<i>OsAzucena07g010420</i>	expressed protein
49	7	<i>OsAzucena07g010430</i>	NA
50	7	<i>OsAzucena07g010440</i>	ZOS7-03 - C2H2 zinc finger protein expressed
51	7	<i>OsAzucena07g010450</i>	expressed protein
52	7	<i>OsAzucena07g010460</i>	Os07g0209800 protein
1	11	<i>OsAzucena11g043300</i>	Putative Disease resistance

			protein RGA5
2	11	<i>OsIR64_11g032380</i>	NB-ARC domain containing protein
3	11	<i>OsIR64_11g032390</i>	Putative VWFA domain-containing protein
4	11	<i>OsIR64_11g032400</i>	Disease resistance protein Pik-1
5	11	<i>OsIR64_11g032410</i>	Disease resistance protein Piks-2
6	11	<i>OsIR64_11g032420</i>	tetratricopeptide repeat domain containing protein expressed
7	11	<i>OsIR64_11g032430</i>	Putative DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 46
8	11	<i>OsIR64_11g032440</i>	Expressed protein
9	11	<i>OsIR64_11g032450</i>	NA
10	11	<i>OsIR64_11g032460</i>	rfam_acc=RF00885
11	11	<i>OsIR64_11g032470</i>	Protein kinase
12	11	<i>OsIR64_11g032480</i>	GUB_WAK_bind domain-containing protein
13	11	<i>OsIR64_11g032490</i>	Protein kinase domain-containing protein
14	11	<i>OsIR64_11g032500</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
15	11	<i>OsIR64_11g032510</i>	Protein kinase domain-containing protein

			protein RGA5
2	11	<i>OsAzucena11g043310</i>	NA
3	11	<i>OsAzucena11g043320</i>	NB-ARC domain-containing protein
4	11	<i>OsAzucena11g043330</i>	expressed protein
5	11	<i>OsAzucena11g043340</i>	rfam_acc=RF00885
6	11	<i>OsAzucena11g043350</i>	Transposon protein Putative CACTAEn/Spm sub-class
7	11	<i>OsAzucena11g043360</i>	NA
8	11	<i>OsAzucena11g043370</i>	NA
9	11	<i>OsAzucena11g043380</i>	NA
10	11	<i>OsAzucena11g043390</i>	Disease resistance protein PIK5-NP
11	11	<i>OsAzucena11g043400</i>	Disease resistance protein PIK5-NP
12	11	<i>OsAzucena11g043410</i>	Conserved hypothetical protein
13	11	<i>OsAzucena11g043420</i>	tetratricopeptide repeat domain containing protein expressed
14	11	<i>OsAzucena11g043430</i>	Os11g0689400 protein
15	11	<i>OsAzucena11g043440</i>	Expressed protein

16	11	<i>OsIR64_11g032520</i>	Protein kinase domain-containing protein
17	11	<i>OsIR64_11g032530</i>	Conserved hypothetical protein
18	11	<i>OsIR64_11g032540</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 5
19	11	<i>OsIR64_11g032550</i>	Conserved hypothetical protein
20	11	<i>OsIR64_11g032560</i>	Major disease resistance protein Xa4
21	11	<i>OsIR64_11g032570</i>	Protein kinase domain-containing protein
22	11	<i>OsIR64_11g032580</i>	rfam_acc=RF00886
23	11	<i>OsIR64_11g032590</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
24	11	<i>OsIR64_11g032600</i>	expressed protein
25	11	<i>OsIR64_11g032610</i>	Protein kinase domain-containing protein
26	11	<i>OsIR64_11g032620</i>	Protein kinase domain-containing protein
27	11	<i>OsIR64_11g032630</i>	Receptor kinase TRKc
28	11	<i>OsIR64_11g032640</i>	Protein kinase domain-containing protein
29	11	<i>OsIR64_11g032650</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570

16	11	<i>OsAzucena11g043450</i>	NA
17	11	<i>OsAzucena11g043460</i>	expressed protein
18	11	<i>OsAzucena11g043470</i>	rfam_acc=RF01902
19	11	<i>OsAzucena11g043480</i>	rfam_acc=RF01902
20	11	<i>OsAzucena11g043490</i>	Protein kinase domain-containing protein
21	11	<i>OsAzucena11g043500</i>	Protein kinase domain-containing protein
22	11	<i>OsAzucena11g043510</i>	NA
23	11	<i>OsAzucena11g043520</i>	Putative expressed protein
24	11	<i>OsAzucena11g043530</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
25	11	<i>OsAzucena11g043540</i>	Putative wall-associated receptor kinase-like 16
26	11	<i>OsAzucena11g043550</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
27	11	<i>OsAzucena11g043560</i>	Protein kinase domain-containing protein
28	11	<i>OsAzucena11g043570</i>	Transposon protein Putative CACTAEn/Spm sub-class
29	11	<i>OsAzucena11g043580</i>	NA

30	11	<i>OsIR64_11g032660</i>	RRM_8 domain-containing protein
31	11	<i>OsIR64_11g032670</i>	Putative Receptor kinase-like protein Xa21
32	11	<i>OsIR64_11g032680</i>	Protein kinase domain-containing protein
33	11	<i>OsIR64_11g032690</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase EFR
34	11	<i>OsIR64_11g032700</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
35	11	<i>OsIR64_11g032710</i>	Receptor kinase TRKc
36	11	<i>OsIR64_11g032720</i>	Expressed protein
37	11	<i>OsIR64_11g032730</i>	ATP-citrate synthase alpha chain protein 2
38	11	<i>OsIR64_11g032740</i>	Fn3_like domain-containing protein
39	11	<i>OsIR64_11g032750</i>	Putative Disease resistance protein RGA5
40	11	<i>OsIR64_11g032760</i>	Conserved hypothetical protein
41	11	<i>OsIR64_11g032770</i>	Conserved hypothetical protein
42	11	<i>OsIR64_11g032780</i>	stripe rust resistance protein Yr10 Putative expressed
43	11	<i>OsIR64_11g032790</i>	expressed protein

30	11	<i>OsAzucena11g043590</i>	rfam_acc=RF00885
31	11	<i>OsAzucena11g043600</i>	NA
32	11	<i>OsAzucena11g043610</i>	Putative Probably inactive leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At3g28040
33	11	<i>OsAzucena11g043620</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
34	11	<i>OsAzucena11g043630</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
35	11	<i>OsAzucena11g043640</i>	Os11g0695800 protein (Fragment)
36	11	<i>OsAzucena11g043650</i>	Transposable element protein Putative MuDR
37	11	<i>OsAzucena11g043660</i>	Expressed protein
38	11	<i>OsAzucena11g043670</i>	NA
39	11	<i>OsAzucena11g043680</i>	NA
40	11	<i>OsAzucena11g043690</i>	ATP-citrate synthase alpha chain protein 2
41	11	<i>OsAzucena11g043700</i>	Fn3_like domain-containing protein
42	11	<i>OsAzucena11g043710</i>	cDNA clone:J033001C17%2C full insert sequence
43	11	<i>OsAzucena11g043720</i>	NA

44	11	<i>OsIR64_11g032800</i>	Protein kinase
45	11	<i>OsIR64_11g032810</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
46	11	<i>OsIR64_11g032820</i>	Myb-related protein MYBAS1
47	11	<i>OsIR64_11g032830</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
48	11	<i>OsIR64_11g032840</i>	Conserved hypothetical protein
49	11	<i>OsIR64_11g032850</i>	Putative H0103C06.4 protein
50	11	<i>OsIR64_11g032860</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
51	11	<i>OsIR64_11g032870</i>	Xylanase inhibitor protein 2
52	11	<i>OsIR64_11g032880</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
53	11	<i>OsIR64_11g032890</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
54	11	<i>OsIR64_11g032900</i>	Putative Xylanase inhibitor protein 1
55	11	<i>OsIR64_11g032910</i>	Putative Xylanase inhibitor protein 1
56	11	<i>OsIR64_11g032920</i>	Putative Zinc finger protein ZAT8
57	11	<i>OsIR64_11g032930</i>	PAP_central domain-containing protein
58	11	<i>OsIR64_11g032940</i>	Putative DDE Tnp4 domain-containing protein
59	11	<i>OsIR64_11g032950</i>	Putative expressed protein

44	11	<i>OsAzucena11g043730</i>	Laccase-21
45	11	<i>OsAzucena11g043740</i>	NA
46	11	<i>OsAzucena11g043750</i>	OSJNBa0053K19.15 protein
47	11	<i>OsAzucena11g043760</i>	Rep_fac-A_C domain-containing protein
48	11	<i>OsAzucena11g043770</i>	ATP-dependent DNA helicase
49	11	<i>OsAzucena11g043780</i>	expressed protein
50	11	<i>OsAzucena11g043790</i>	zinc knuckle family protein expressed
51	11	<i>OsAzucena11g043800</i>	Putative Ulp1 protease-like protein
52	11	<i>OsAzucena11g043810</i>	NA
53	11	<i>OsAzucena11g043820</i>	NA
54	11	<i>OsAzucena11g043830</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
55	11	<i>OsAzucena11g043840</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
56	11	<i>OsAzucena11g043850</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
57	11	<i>OsAzucena11g043860</i>	Putative ULP_PROTEASE domain-containing protein
58	11	<i>OsAzucena11g043870</i>	NA
59	11	<i>OsAzucena11g043880</i>	Conserved hypothetical

60	11	<i>OsIR64_11g032960</i>	Putative Osmotin-like protein
61	11	<i>OsIR64_11g032970</i>	RING-type domain-containing protein
62	11	<i>OsIR64_11g032980</i>	RING-type domain-containing protein
63	11	<i>OsIR64_11g032990</i>	Vacuolar protein sorting-associated protein 2 homolog 1
64	11	<i>OsIR64_11g033000</i>	Conserved hypothetical protein
65	11	<i>OsIR64_11g033010</i>	Expressed protein
66	11	<i>OsIR64_11g033020</i>	Neprosin_AP domain-containing protein
67	11	<i>OsIR64_11g033030</i>	Heat shock cognate 70 kDa
68	11	<i>OsIR64_11g033040</i>	NA
69	11	<i>OsIR64_11g033050</i>	rfam_acc=RF00133
70	11	<i>OsIR64_11g033060</i>	NA
71	11	<i>OsIR64_11g033070</i>	Heat shock cognate 70 kDa protein
72	11	<i>OsIR64_11g033080</i>	Os11g0704000 protein
73	11	<i>OsIR64_11g033090</i>	NB-ARC domain containing protein
74	11	<i>OsIR64_11g033100</i>	expressed protein
75	11	<i>OsIR64_11g033110</i>	OBG-type G domain-containing protein

			protein
60	11	<i>OsAzucena11g043890</i>	NA
61	11	<i>OsAzucena11g043900</i>	expressed protein
62	11	<i>OsAzucena11g043910</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
63	11	<i>OsAzucena11g043920</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
64	11	<i>OsAzucena11g043930</i>	Retrotransposon protein Putative Ty3-gypsy subclass
65	11	<i>OsAzucena11g043940</i>	Putative Disease resistance protein PIK6-NP
66	11	<i>OsAzucena11g043950</i>	Putative Disease resistance protein PIK6-NP
67	11	<i>OsAzucena11g043960</i>	Retrotransposon protein Putative unclassified
68	11	<i>OsAzucena11g043970</i>	NA
69	11	<i>OsAzucena11g043980</i>	Putative OSJNBa0043L09.11 protein
70	11	<i>OsAzucena11g043990</i>	rfam_acc=RF00885
71	11	<i>OsAzucena11g044000</i>	rfam_acc=RF00885
72	11	<i>OsAzucena11g044010</i>	expressed protein
73	11	<i>OsAzucena11g044020</i>	Myb-related protein MYBAS1
74	11	<i>OsAzucena11g044030</i>	expressed protein
75	11	<i>OsAzucena11g044040</i>	Protein kinase domain-containing protein

76	11	<i>OsIR64_11g033120</i>	anti_codon=CTT
77	11	<i>OsIR64_11g033130</i>	Putative Metallothionein-like protein 1A
78	11	<i>OsIR64_11g033140</i>	X8 domain-containing protein
79	11	<i>OsIR64_11g033150</i>	RRM domain-containing protein
80	11	<i>OsIR64_11g033160</i>	RHOMBOID-like protein
81	11	<i>OsIR64_11g033170</i>	expressed protein
82	11	<i>OsIR64_11g033180</i>	GRAS domain-containing protein
83	11	<i>OsIR64_11g033190</i>	Putative Os11g0631825 protein
84	11	<i>OsIR64_11g033200</i>	Conserved hypothetical protein
85	11	<i>OsIR64_11g033210</i>	Conserved hypothetical protein
86	11	<i>OsIR64_11g033220</i>	Conserved hypothetical protein
87	11	<i>OsIR64_11g033230</i>	Conserved hypothetical protein
88	11	<i>OsIR64_11g033240</i>	Conserved hypothetical protein
89	11	<i>OsIR64_11g033250</i>	Expressed protein
90	11	<i>OsIR64_11g033260</i>	Expressed protein
91	11	<i>OsIR64_11g033270</i>	Thaumatococcus-like protein
92	11	<i>OsIR64_11g033280</i>	CYCLIN domain-containing protein

76	11	<i>OsAzucena11g044050</i>	NA
77	11	<i>OsAzucena11g044060</i>	Chitinase
78	11	<i>OsAzucena11g044070</i>	Glycosyl hydrolases family 18
79	11	<i>OsAzucena11g044080</i>	Xylanase inhibitor protein 2
80	11	<i>OsAzucena11g044090</i>	Chitinase
81	11	<i>OsAzucena11g044100</i>	Chitinase
82	11	<i>OsAzucena11g044110</i>	Glycosyl hydrolases family 18
83	11	<i>OsAzucena11g044120</i>	Glycosyl hydrolases family 18
84	11	<i>OsAzucena11g044130</i>	expressed protein
85	11	<i>OsAzucena11g044140</i>	Xylanase inhibitor protein 1
86	11	<i>OsAzucena11g044150</i>	Chitinase III C10701-rice
87	11	<i>OsAzucena11g044160</i>	Chitinase III C10701-rice
88	11	<i>OsAzucena11g044170</i>	Chitinase III C10701-rice
89	11	<i>OsAzucena11g044180</i>	ZOS11-09 - C2H2 zinc finger protein expressed
90	11	<i>OsAzucena11g044190</i>	C2H2 type zinc finger transcription factor ZFP17
91	11	<i>OsAzucena11g044200</i>	Expressed protein
92	11	<i>OsAzucena11g044210</i>	DDE Tnp4 domain-containing protein

93	11	<i>OsIR64_11g033290</i>	Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase chloroplastic
94	11	<i>OsIR64_11g033300</i>	Os11g0707050 protein
95	11	<i>OsIR64_11g033310</i>	Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase chloroplastic
96	11	<i>OsIR64_11g033320</i>	expressed protein
97	11	<i>OsIR64_11g033330</i>	Chain A Nmr Structure Of The Single Qalggh Zinc Finger Domain From Arabidopsis Thaliana Superman Protein
98	11	<i>OsIR64_11g033340</i>	Putative expressed protein
99	11	<i>OsIR64_11g033350</i>	Very-long-chain aldehyde decarbonylase GL1-11
100	11	<i>OsIR64_11g033360</i>	Os11g0707700 protein
101	11	<i>OsIR64_11g033370</i>	Mitochondrial uncoupling protein 1
102	11	<i>OsIR64_11g033380</i>	expressed protein
103	11	<i>OsIR64_11g033390</i>	Laccase-22
104	11	<i>OsIR64_11g033400</i>	Putative expressed protein
105	11	<i>OsIR64_11g033410</i>	Conserved hypothetical protein
106	11	<i>OsIR64_11g033420</i>	GDSL esterase/lipase

93	11	<i>OsAzucena11g044220</i>	OSJNBa0023J03.3 protein
94	11	<i>OsAzucena11g044230</i>	F-box domain-containing protein
95	11	<i>OsAzucena11g044240</i>	Os11g0703000 protein
96	11	<i>OsAzucena11g044250</i>	thaumatin family domain containing protein expressed
97	11	<i>OsAzucena11g044260</i>	RING-type domain-containing protein
98	11	<i>OsAzucena11g044270</i>	RING-type domain-containing protein
99	11	<i>OsAzucena11g044280</i>	Vacuolar protein sorting-associated protein 2 homolog 1
100	11	<i>OsAzucena11g044290</i>	Expressed protein
101	11	<i>OsAzucena11g044300</i>	Neprosin_AP domain-containing protein
102	11	<i>OsAzucena11g044310</i>	expressed protein
103	11	<i>OsAzucena11g044320</i>	Heat shock cognate 70 kDa
104	11	<i>OsAzucena11g044330</i>	NA
105	11	<i>OsAzucena11g044340</i>	rfam_acc=RF00133
106	11	<i>OsAzucena11g044350</i>	NA

			CPRD49
107	11	<i>OsIR64_11g033430</i>	SOR_SNZ domain-containing protein
108	11	<i>OsIR64_11g033440</i>	helicase conserved C-terminal domain containing protein expressed

107	11	<i>OsAzucena11g044360</i>	Heat shock cognate 70 kDa protein
108	11	<i>OsAzucena11g044370</i>	selT/selW/selH selenoprotein domain containing protein expressed
109	11	<i>OsAzucena11g044380</i>	OBG-type G domain-containing protein
110	11	<i>OsAzucena11g044390</i>	anti_codon=CTT / tRNA-Lys
111	11	<i>OsAzucena11g044400</i>	Metallothionein-like protein 1A
112	11	<i>OsAzucena11g044410</i>	Glucan endo-1-3-beta-glucosidase (Ec 3.2.1.39) ((1-3)-beta-glucan endohydrolase) ((1-3)-beta-glucanase)(Beta-1-3-endoglucanase)
113	11	<i>OsAzucena11g044420</i>	Os11g0704700 protein/ RNA recognition motif containing protein, expressed
114	11	<i>OsAzucena11g044430</i>	RHOMBOID-like protein
115	11	<i>OsAzucena11g044440</i>	expressed protein
116	11	<i>OsAzucena11g044450</i>	GRAS family transcription factor containing protein expressed
117	11	<i>OsAzucena11g044460</i>	NA
118	11	<i>OsAzucena11g044470</i>	GRAS family transcription factor containing protein expressed
119	11	<i>OsAzucena11g044480</i>	GRAS family transcription factor containing protein

Chapitre 3 : Utilisation d'une approche de RNA-seq pour identifier des gènes exécuteurs candidats contre les souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Contexte

De précédentes études menées par l'équipe sur les souches Africaines de *Xoo* (Gonzalez et al. 2007; Djedatin et al. 2011) ont montré que ces dernières diffèrent des souches Asiatiques par de nombreux traits, et notamment qu'elles induisent des résistances qui leur sont spécifiques. A ce jour, seulement quatre gènes de résistance de type exécuteur (*E*) induits par *Xoo* ont été identifiés chez le riz. Il s'agit de *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*. Les TALE correspondants *AvrXa7*, *AvrXa10*, *AvrXa23* et *AvrXa27* n'ont jamais été détectés chez les souches Africaines.

Dans les chapitres précédents deux TALE d'avirulence, dont *TalD*, ont été identifiés chez les souches de *Xoo* MAI1 et BAI3 pour promouvoir la résistance sur des variétés de riz, dont la variété IR64 qui est séquencée et pour laquelle une population de lignées recombinantes était disponible. Les analyses de cartographie menées dans le chapitre 2 ont permis de mettre en avant cinq QTL impliqués dans la résistance à ces deux souches. Par ailleurs, un lien entre le TALE d'avirulence *TalD* et le QTL identifié sur le chromosome 11 a pu être établi. Fort des résultats acquis par une approche de génétique et, considérant la capacité des TALE à induire leurs gènes cibles, nous nous sommes ensuite tournés vers une approche de RNAseq. Cette approche a pour but d'identifier les gènes différentiellement régulés en condition de résistance chez IR64 et de pouvoir ainsi croiser ces résultats avec ceux obtenus dans le chapitre 2 pour identifier de nouveaux gènes de résistance aux souches Africaines de *Xoo* chez IR64.

Matériels & Méthodes

Pour tester si la résistance médiée par *TalD* chez IR64 provenait de l'induction d'un gène exécuteur, nous avons dans un premier temps testé si le domaine d'activation de la transcription de ce TALE était nécessaire à son activité d'avirulence en le supprimant.

Basé sur la capacité des effecteurs TAL à se fixer au promoteur de leur gènes cibles et à les sur-exprimer, nous avons entrepris une analyse de transcriptomique sur la variété résistante IR64 et la variété sensible Nipponbare, afin d'identifier de potentiels gènes exécuteurs répondant à l'inoculation de MAI1 et BAI3 sur IR64. En plus des deux souches sauvages, la souche mutante *BAI3ΔtalD* portant soit un vecteur vide (EV), soit complétée avec *talD* (*ptalD*), ont été utilisées pour identifier spécifiquement les gènes exécuteurs candidats induits par cet effecteur.

Résultats & Conclusions

Dans cette étude, les résultats ont démontré que le domaine d'activation de TalD, facteur d'avirulence conservé chez les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, est nécessaire pour promouvoir la résistance chez IR64. Les résultats d'expressions différentielles combinés aux analyses de prédiction de cibles *in silico* pour TalD ont permis l'identification de plusieurs gènes exécuteurs candidats.

Perspectives

Afin de confirmer le rôle des gènes candidats dans la résistance de IR64 face aux souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, des TALE artificiels seront générés pour cibler le promoteur de ces derniers. Ils seront transformés dans une souche de *Xoo* virulente sur IR64 afin d'observer si l'induction d'un des gènes candidats permet d'observer un gain d'avirulence. Suite à cela, si certains des gènes candidats sont validés, la génération de plantes éditées dans l'EBE ou dans la séquence codante du gène et la transformation de plantes sensibles avec le gène candidat et son promoteur, seront entreprises.

Implication personnelle

L'inoculation des souches bactériennes, la lecture des longueurs de lésions, l'extraction des ARN, ont été réalisés par mes soins. Tout au long de ma thèse, en plus d'avoir suivie de nombreuses formations en bioinformatique, j'ai été formée par Julie Orjuela aux analyses de RNAseq. Alvaro L. Perez-Quintero m'a par la suite assistée dans les analyses des données brutes de séquençage des échantillons de cette étude; le traitement des données ressortant de ces analyses a ensuite été pris en charge par moi-même.

RNA-seq approach used to uncover potential candidate executor genes against African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains

Marlène Lachaux¹, Alvaro L. Perez-Quintero¹, Julie Orjuela^{1,2}, Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²DIADE DIversity-Adaptation-DEvelopment of plants, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, CNRS, Montpellier, France

Abstract

Bacterial leaf blight (BLB) of rice, caused by the gram-negative bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), is a devastating disease responsible of considerable losses and yield reductions in Asia and Africa. Through its type-III secretion system *Xoo* injects Transcription Activator-Like Effectors (TALEs) into the host cell, hence modulating the expression of plant genes to promote bacterial colonization. Few relevant target genes of TALEs have been identified so far, but some of them have been reported as major virulence effectors by targeting susceptibility (*S*) genes whose overexpression contributes to the development of the disease. On another hand, plants have evolved to "trick" TALEs into driving the expression of so-called executor (*E*) genes leading to a resistance reaction that stops disease development. Although in rice, four *E* genes induced by *Xoo* TALEs have been identified and cloned, their cognate TALEs have never been detected in African *Xoo* strains. So far, we have identified four TALE candidates conferring avirulence to the *Xoo* strain MAI1 on different rice varieties, and confirmed the avirulence activity of two. In this study, results demonstrated that TalD, an avirulence factor common to the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, relies on its activation domain to promote resistance in IR64. With the aim of identifying potential *E* genes underlying IR64 resistance to MAI1 and BAI3, we used an RNAseq approach combined to *in silico* EBE prediction, allowing for the identification of several candidate *E* genes.

Introduction

To date, there are approximately 400 species of plants that serve as host for the plant-pathogenic bacteria *Xanthomonas*, including a wide variety of monocotyledons and dicotyledons, of which crops of important agronomic interest such as tomato, rice, cotton, wheat, cassava, or citrus (Jacques et al. 2016). The gram-negative bacteria *Xanthomonas* secretes via its type-III secretion system (T3SS) a cocktail of effectors into the host cell, which can be distinguished in two families, the TAL (Transcription Activator-Like) and the non-TAL effectors. In different pathosystems TAL effectors (TALEs) play an important role in pathogenicity. TALEs are characterized by a nuclear localization signal (NLS) allowing them to enter the nucleus, a central domain composed of tandem repeats enabling them to bind to DNA in a specific manner, and an acidic activation domain (AD) allowing the recruitment of the transcriptional machinery. The repeat region is composed of sequences of 33-34 nearly-identical amino acids, of which the residues in position 12 and 13 are hypervariable and responsible for the DNA stabilization and interaction, they are called RVDs (Repeat Variable Di-residues). TALEs bind to a DNA sequence called EBE for "Effector Binding Element", located in the promoter of the target genes. In 2009, two teams (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) deciphered simultaneously the code governing the interaction between TALE and DNA, demonstrating that each RVD can fix a specific nucleotide and consequently allowing to predict target EBEs from TALE sequences. TALEs were known to promote disease through the induction of susceptibility (*S*) genes, which are essential to the proliferation of bacteria into the plant (Hutin et al. 2015). Among the *S* genes targeted by TALEs, the *SWEET* (*Sugar Will Eventually be Exported Transporters*) gene family, encoding sugar uniporters, is the most studied (Streubel et al. 2013; Chen 2014; Cox et al. 2017). Even if TALEs primary role seems to be allowing disease development, they were first identified at promoting resistance mechanisms (Bonas et al. 1989; Hopkins et al. 1992). To date, three types of resistance mediated by TALEs have been describe. The first one, is called "resistance by loss of susceptibility" and results of a polymorphism in the TALE's EBE of a susceptibility gene compromising its induction and consequently disease development. Otherwise, TALEs can be recognized as a "classical" type-III effector (T3E) through a nucleotide-binding domain leucine rich repeat containing receptor (NLR) protein thus triggering a resistance cascade and finally an hypersensitive response (HR). To date, two NLRs from the tomato plant and rice, respectively named Bs4 and Xa1, are known to induce TALE-dependent resistance (Yoshimura et al. 1998; Schornack et al. 2004). These NLR recognize TALE independently of their RVD sequence and activation domain (AD). Bs4 is constitutively induced and perceives AvrBs4 in the cytoplasm. Xa1 recognizes most of the *Xoo* TALEs and acts in the nucleus (Ji et al. 2016). Finally, some TALEs can bind to the promoter of a so-called executor (*E*) gene which blocks disease development. In the last case, with

an EBE placed upstream of this type of gene, the plant ensures the attachment of a TALE to the gene promoter hence driving the initiation of a resistance pathway (Zhang et al. 2015).

To date six *E* genes, along with their associated avirulence TALEs, have been cloned, namely *Bs3* and *Bs4C-R* in pepper (Römer et al. 2007; Strauß et al. 2012) and *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* and *Xa27* in rice (Gu et al. 2005, 2008; Wang et al. 2015; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). Executor genes code for small proteins of unknown function and do not resemble the classical resistance proteins NLRs. The first executor gene to be cloned in rice was the *Xa27* gene (Gu et al. 2004), isolated by positional cloning. *Xoo* strains carrying the *tal* gene *avrXa27* are able to induce *Xa27* and consequently the production of a small protein secreted in the apoplast that is toxic to the cell. Overexpression of this protein results in thickening of the vascular bundle elements, as well as an HR that completely blocks the development of rice vascular bacterial disease (Wu et al. 2008). Regarding the *R* gene *Bs4C* from pepper, which is induced by the AvrBs4 TALE of *X. euvesicatoria*, rather than using laborious approach such as positional cloning, Strauß et al. (2012) succeed to isolate *Bs4C* by using Illumina-based transcriptome profiling combined with EBE predictions (Strauß et al. 2012). In 2021, this time through the combination of fine genetic mapping and transcriptomic approaches, Luo et al. (2021) managed to isolate the *R* gene *Xa7*, targeted by TALEs AvrXa7 and PthXo3 (Luo et al. 2021). The *E* gene *Xa7* was shown to confer highly durable resistance due to the fact that AvrXa7 plays a dual role, first by targeting this *E* gene thus initiating resistance pathways, and second by targeting the *S* gene *OsSWEET14* driving mechanisms leading to disease (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010).

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*), the causal agent of the bacterial leaf blight (BLB) of rice, is considered as a threat in Asia and West Africa due to important yield losses, ranging to 10% up to 50% (Liu et al. 2014). African and Asian *Xoo* strains are genetically distant from each other and differ by many traits. On the one hand, they are known to promote specific resistance, Quantitative Trait Loci (QTLs) and genes, in another hand they display a different number of *tal* genes, with a reduced TALome for African *Xoo* strains with up to 9 *tal* genes versus up to 19 for Asian strains (Gonzalez et al. 2007; Salzberg et al. 2008).

In previous studies, several QTLs conferring resistance to the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 were evidenced in IR64 through the use of Recombinant Inbred Lines (RILs) from the cross between the elite *indica* rice variety IR64 and the *japonica* landrace Azucena (Djedatin et al. 2016; Lachaux et al. in prep). Two of them, identified on chromosome 7 (*qABB-7*) and 11 (*qABB-11*), have a large effect explaining 36% and 18% of the phenotypic variance observed upon the inoculation of MAI1 and BAI3, respectively (Lachaux et al. in prep). In addition, the resistance

QTL *qABB-11* identified in response to MAI1 and BAI3, was reported to be more specifically highlighted by TalD which is conserved between both strains. In this study, we first aimed at determining if the resistance in IR64 promoted by TalD is activation domain dependent. Our results show that the deletion of the activation domain of TalD impaired its avirulence activity on IR64. To go further on this lead, a transcriptome analysis was carried out with a strain mutated for the avirulent TALE in order to sort out differentially expressed genes in comparison to the wild type strain BAI3 and identify candidates that may act as *E* genes. Furthermore, transcriptional responses of susceptible and resistant rice varieties to the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 was studied. We report here on the identification of several candidate genes responding to MAI1 and BAI3 and more specifically to TalD.

Results

The transcriptional activation domain of TalD is required to trigger resistance on IR64

In previous work we reported the avirulence activity of TalD on the rice variety IR64 (Lachaux et al. preprint). Herein to test whether the resistance promoted by TalD relies on the induction of an *E* gene, the acidic activation domain of this TALE was deleted (*ptalDΔAD*). The wild-type African *Xoo* strain BAI3, and the mutant strain BAI3Δ*talD* carrying either an empty vector (EV), TalD (*ptalD*) or its activation domain deleted (*ptalDΔAD*) derivatives, were inoculated on the resistant rice variety IR64 and the susceptible control landrace Azucena (Fig. 1). Leaf-clip inoculation of the three mutant strains produced WT-like symptoms on Azucena, indicating that virulence of these strains is not affected. As previously reported, the inoculation of the mutant strain BAI3Δ*talD* carrying an empty vector displayed on IR64 an increase in lesion lengths compared to the wild-type strain BAI3, while when a plasmid-borne copy of *talD* was expressed avirulence was fully restored. In contrast, the activation domain mutant *ptalDΔAD* did not allow to restore the avirulence phenotype of BAI3Δ*talD* on IR64 (Fig. 1). Western-blot analysis verified that TalD and TalDΔAD accumulate at comparable levels (Fig. S1). Overall, these results indicate that TalD relies on its acidic activation domain to promote resistance in IR64, which would likely rely on the induction of an *E* gene.

Assessment of IR64 and Nipponbare RNAseq libraries

Having identified in a previous study several QTLs of resistance to MAI1 and BAI3 including one specific of TalD on the chromosome 11 in IR64 (Chapter 2, Lachaux et al. in prep), and based on the assumption that at least TalD transcriptionally activates an *E* gene, we initiated a RNAsequencing-based transcriptome profiling to identify candidate *R* genes. The resistant rice variety IR64 and the susceptible variety Nipponbare, whose genomes are publicly available, were

leaf infiltrated with the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and the mutant strain BAI3 Δ *talD* carrying an empty vector or complemented with *talD*.

RNAseq libraries were generated from leaf tissues collected 24 hours post-inoculation. As a reference for infection status, the induction of the *S* gene *OsSWEET14* which is known to be over-expressed by the *Xoo* strains MAI1 and BAI3 (Streubel et al. 2013), was evaluated in our biological samples in order to assess their quality prior sequencing. Even though, no disease symptoms was observed on the leaves 24 hours post-infiltration, the up-regulation of *OsSWEET14* by the four African *Xoo* strains is detected in Nipponbare and IR64 (Fig. S2).

Each library comprised a minimum of 20 million paired-end reads with an average of 23.2 million reads, and with an average read length of 300 nucleotides. The genomes of Nipponbare and IR64, publicly available on the Rice Genome Hub platform (Droc et al. 2019), were used to map those reads using STAR (v020201) (Dobin et al. 2013). Overall, the libraries had around 93% of reads mapping to the genome and percentages were similar between Nipponbare and IR64. Next, HTseq-count (v0.6.0) (Anders et al. 2015) was used with the mapping results to count the number of reads assigned to each gene to report their expression values. Similar number of reads were mapped to genes in total in each library. Afterwards, according to a Principal Component Analysis (PCA), the Nipponbare libraries tended to group by treatments, while the IR64 libraries group according to biological replicate (Fig. 2). In order to compare the different treatments, differential expression of each gene was calculated using DESeq2 (Love et al. 2014) and EgdeR (Robinson et al. 2009). To facilitate comparisons across IR64 and Nipponbare genomes, reciprocal blast between the two genomes was performed to identified orthologs, identifying 30,990. Of these 53 and 59 ortholog pairs were identified as differentially expressed in response to BAI3 and MAI1, respectively, in both genomes IR64 and Nipponbare, when compared to a mock control.

The *S* gene *OsSWEET14*, previously used as a marker of infection to assess, prior sequencing, the RNA libraries quality, was afterwards searched in each RNAseq library to evaluate its induction pattern. *OsSWEET14* was found induced in each library except in the mock controls but, unexpectedly, had much lower normalized counts in IR64 libraries compared to Nipponbare libraries (Fig. 3). To ensure that this was not due to a faulty assembly or annotation of the IR64 genome, the reads of each IR64 libraries were also mapped on the Nipponbare genome. The IR64 libraries had similar percentage of reads mapping to the Nipponbare genome as previously observed on the IR64 genome and the level of expression of *OsSWEET14* was similar regardless of the genome used for mapping, meaning the transcriptomic results observed are not related to a genome

issue but probably to a biological or technical issue. It is possible that for some unknown reason, the IR64 samples did not capture enough cells or tissues responsive to the bacteria, resulting in a diluted transcriptome, which also explains the lack of grouping according to treatment in the PCA of the IR64 libraries. Another possibility is that the time point (24 hours) used was not appropriate to this experiment.

Concerning the *BAI3ΔtalD(ptalD)* strain, the transcriptome profile expected was the same as the wild-type strain BAI3, with a higher expression profile of the genes potentially induced by TalD (directly and indirectly), in IR64. Unfortunately, the RNAseq libraries of this strain displayed an expression profile similar as the mock condition in IR64 and Nipponbare. We assumed then another problem had occurred in the process of this experiment, so the *BAI3ΔtalD(ptalD)* strain libraries have been removed from the analyses.

Differential expression of genes in resistant and susceptible varieties upon BAI3, MAI1 wild-type strains, and the *BAI3ΔtalD(EV)* mutant strain

Differential expression of genes was assessed using a threshold of Log_2FC (Fold Change) superior and inferior to 1 and -1 respectively, and an adjusted p.value ≤ 0.1 (calculated with either DESeq2 or EdgeR), moreover three comparisons were evaluated. First, the wild-type strains MAI1 and BAI3 were compared to the mock control condition, in IR64 and Nipponbare. In IR64, 57 genes were found to be differentially expressed by MAI1, including 45 genes up-regulated and 12 genes down-regulated. Regarding BAI3, 87 genes were detected differentially expressed, with 75 genes up-regulated and 12 genes down-regulated. On the other hand, 857 and 710 genes were respectively up- and down-regulated by MAI1, and 768 and 646 genes were up- and down-regulated by BAI3, in Nipponbare. Next, the differential gene expression induced by the wild-type strain BAI3 compared with the mutant strain *BAI3ΔtalD(EV)* was evaluated. In the resistant variety IR64, 12 and 11 genes were found to be up and down-regulated, respectively, by the wild-type strain. While on Nipponbare, 155 and 206 genes were detected as up- and down-regulated by BAI3. The fact that there are more differentially induced genes in Nipponbare than in IR64, could be justified by the respectively weak vs. strong difference between treatments, as shown in the PCA (Fig. 2) .

Then, the intersection of the two comparisons in IR64, BAI3 vs. mock and BAI3 vs. *BAI3ΔtalD(EV)*, revealed seven and eight genes commonly up- and down-regulated. Furthermore, 37 and 4 genes were listed to be up- and down-regulated in IR64, by both strains MAI1 and BAI3 (Fig. 4). Among those 37 up-regulated genes, 4 were also identified as up-regulated by BAI3 in

comparison to the mutant strain *BAI3ΔtalD*(EV) (Table 1; Fig. 4). These four genes represent great candidate *E* genes induced by TalD.

In Nipponbare, 122 and 163 genes were revealed to be up- and down-regulated by BAI3 when compared to the mock control and the mutant strain (Fig. 4). Moreover 591 and 477 genes were identified to be commonly up- and down-regulated by MAI1 and BAI3 by comparison with the mock control (Fig. 4). Finally, 94 up-regulated and 125 down-regulated genes were found to be commonly induced in Nipponbare by MAI1 and BAI3 when compared to the mutant strain and the mock control (Fig. 4). Those 94 up-regulated include the 4 candidate *E* genes previously identified in IR64 (Table 1).

Next, gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock controls, in the resistant and susceptible conditions, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with a $p\text{-value} \leq 0.05$ (Droc et al. 2019). LOC_ID from Nipponbare orthologs were used for GO enrichment of IR64 differentially expressed genes. As shown in the Fig. S3, in the susceptible condition (Nipponbare) several genes involved in the photosynthesis pathway are down-regulated by MAI1 and BAI3, which coincides with the infection process of *Xoo*. In addition, genes of the hydrogen peroxide (H_2O_2) metabolic and catabolic processes are up-regulated by BAI3, reflecting the perception of the pathogen (Fig. S3). In the resistant condition (IR64), genes involved in various biosynthetic processes, such as polysaccharide, carbohydrate or phenylpropanoid processes, are down-regulated by MAI1 and BAI3 (Fig. S4). No GO enrichment was found for up-regulated genes in IR64 by MAI1 and BAI3.

Prediction of candidate genes targeted by TalD

The top 1000 predicted target genes of TalD in each genome (IR64 and Nipponbare) were then highlighted through the Talvez program v.3.2 (Pérez-Quintero et al. 2013). Talvez scores ranged from 9.3 to 14.1 in IR64, and from 9.5 to 13.9 in Nipponbare. Of the 1000 potential candidate targets of TalD, 7 and 110 were present among the differentially expressed genes in IR64 and Nipponbare, respectively, pooling all conditions.

Next, we examined the four up-regulated genes in IR64, that were differentially expressed by BAI3 and MAI1 compared to the mock control, and in the condition BAI3 vs *BAI3ΔtalD*(EV) (Fig. 4). Out of these four genes two, *OsIR64_03g045980* and *OsIR64_07g032900*, coding for a "Squamosa promoter binding protein-like 6" (SPL6) and a "CBL-interacting protein kinase 3" (CIPK3) respectively, contained predicted EBE sequence for TalD in their promoter. According to Talvez their rank positions were 2 and 306, and their scores were 13.7 and 10.5, respectively. These two

genes had their Nipponbare orthologs, *LOC_Os03g61760* and *LOC_Os07g48760*, also differentially expressed and with the same EBE sequence predicted. Their respective rank positions and scores, were 3 and 421, and 13.5 and 10.3, based on Talvez (Table 1). The protein sequence of these two genes were then compared between orthologs. The protein sequence of CIPK3 was exactly the same between IR64 and Nipponbare, while the protein sequence of SPL6 has two inserted sequences, of 28 and 10 amino-acids, in the IR64 protein versus the Nipponbare one (Fig. S5).

Transcriptional response and TalD binding site predictions of genes located in the QTL intervals revealed by BAI3 and MAI1 in IR64

In previous study five resistance QTLs located in IR64 were revealed by the presence of the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively on chromosomes 3 (*qABB-3a*), 4, 7 and 11, and on chromosomes 3 (*qABB-3b*) and 11. The QTL on chromosome 11, *qABB-11*, being shared by both strains, was the first analyzed for deregulated genes in response to MAI1 and BAI3. Unfortunately, no differentially expressed genes present in the IR64 RNAseq libraries was found in this QTL, whereas three genes (two expressed proteins and one conserved hypothetical protein) located in this QTL were identified to have an EBE for TalD (Table 2). Among these three genes only one, *OsIR64_11g033100*, has also an EBE for TalD in its ortholog (*LOC_Os11g47790*) promoter.

Regarding the second QTL revealed by BAI3, *qABB-3b*, only one gene differentially expressed, *OsIR64_03g006810*, and annotated as a "detoxification" protein, was identified at the QTL (+/- 1 Mbp out of the interval). The ortholog in Nipponbare, *LOC_Os03g08900*, was also identified as differentially expressed (Table 3) and encodes for a MATE transporter.

Concerning the three other QTLs conferring resistance to MAI1 in IR64, one gene was reported in each QTL on chromosomes 4 and 7 (+/- 1 Mbp out of the interval), and no gene was reported in the QTL on chromosome 3 (*qABB-3a*) (Table 3).

A closer look at each technical replicate

As the assessment of the libraries showed that the transcriptome of the IR64 libraries might be diluted, we decided to examine each technical replicate one by one, in order to identify more differentially expressed genes in the QTL *qABB-11*. Several genes located in *qABB-11* (+/- 1 Mbp out of the interval) were identified differentially expressed in at least one of the three technical replicates, when comparing the wild-type strain BAI3 and the mock conditions in IR64 (Table 4). Among these genes three, *OsIR64_11g033220*, *OsIR64_11g032900* and *OsIR64_11g033060*, coding for a "GRAS-domain containing protein", a "putative xylanase inhibitor protein 1" and a "non coding RNA" respectively, were identified in two of the three replicates. None of these three

genes is differentially expressed in Nipponbare variety comparing BAI3 and mock conditions. However, none of these genes have a predicted EBE for TalD in both genomes.

While no gene was found to fulfill all the expected criteria for an *E* gene: differential expression, overlap with QTL, and presence of an EBE, several genes fulfill one or more of these conditions and are likely to be involved in the resistance response of IR64 against MAI1 and/or BAI3. These candidate genes are summarized in the Table 5.

Discussion

In this study, we demonstrated that the avirulence factor TalD previously identified (Lachaux et al. preprint) relies on its activation domain to induce resistance in IR64, suggesting hence an *E* gene is involved. In 2012, Strauß et al. used transcriptome analysis to identify the *E* gene *Bs4C* from pepper. They were the first to use RNAseq analysis to sort out an *E* gene. They went from 16,220 differentially expressed genes in the RNAseq to 32 candidate genes and finally selected 1 whose corresponding reads were detectable only in the resistant parent but not in the susceptible one. Using an F₂ population allowed them to reveal the complete linkage of the candidate locus and the *Bs4C*-triggered HR. Next, the comparison of the allele sequences between resistant and susceptible variety showed that they differ in their predicted promoter and coding sequences, and further experiments demonstrated that the induction of the *Bs4C*-triggered HR relies on the promoter polymorphism (Strauß et al. 2012). Finally, they used the TALE code to predict the sequence in the promoter of *Bs4C* that would be bound by AvrBs4. To date, despite what the *Bs4C* case shows, finding an *E* gene has often been tricky, even when genomic and transcriptomic data exist, as in the identification of *Xa7*. This gene was identified by RNAseq, but previously it was fine-mapped and was difficult to identify for several years (Luo et al. 2021).

In this study we expected to identify candidate *E* genes that were differentially expressed in RNAseq data, contained a predicted TALE binding site and collocated with identified QTLs. No candidate gene that would have been sorted out by the combination of all three approaches was found which might be explained either by technical reasons related to biases and limitations of the data used, or to biological reasons related to the nature of the *R* gene. Concerning RNAseq, we identified potential problems with IR64 treatments, mainly that there was not a clear effect of the treatments in the transcriptome, maybe caused by biological or technical issues, which lead us to repeat the experiment in the future. Despite this potential inconvenient, as said there might also be biological reasons why the target would be not found. For example, the timing of the evaluation of the samples

(24 hours) could be inadequate to identify the effect of TalD on the transcriptome; hence it would be interesting to try different time points to see if other candidate genes are revealed.

The identification of susceptibility genes through the use of transcriptome analyses is ideal as they are known to be strongly overexpressed when plant is infected by pathogens. Contrary to NLR proteins whose resistance mechanisms and transcriptome change related to their induction are well studied (Cui et al. 2015), the function of *E* genes is not as well understood and we have almost no insight on the level of expression needed to mediate resistance. Moreover, we don't have enough insight into the functions of *E* genes in the absence of bacterial challenge. The question remains whether *E* genes are repressed when there is no bacteria, as *E* genes can be considered as toxic for the plant (Zhang et al. 2015), or whether there is a basal expression in non-infectious condition and up-regulation under pathogen infection. In this study, differential expression of genes was assessed using a threshold of Log₂FC superior to 1 and inferior to -1, with an adjusted p.value of maximum 0.1. These default parameters, are commonly used in transcriptome analyses to ensure that few false positives are retained. However, it can be supposed that if the induced gene is considered toxic to the plant, only a very small amount would be needed to cause an HR, resulting in a low level of expression of this gene. In that case the differential expression of the *E* gene might not be retained regarding the default parameters.

Since the results of this study suggest that TalD promotes resistance dependent on the induction of an *E* gene, predictions of TALE binding sites for TalD in IR64 and Nipponbare were assessed with the Talvez program (Pérez-Quintero et al. 2013). In previous studies, EBE for avirulence genes were predicted in the first 1000bp of the promoter sequence of *E* genes (Römer et al. 2009; Strauß et al. 2012; Wang et al. 2015), therefore in the course of this study only this region was screened for EBE prediction. Herein, very few candidates of the RNAseq analyses were potentially targeted by TalD. When *Xa23* was identified, the predicted EBE for *AvrXa23* using the TALE-NT program had a score twice as high (indicating lower likelihood of binding) as those previously predicted for the avirulence genes *AvrXa10*, *AvrXa27*, *AvrBs3*, and *AvrBs4*, indicating that the RVDs of *AvrXa23* poorly match to the EBE_{*AvrXa23*} sequence (Wang et al. 2015). Concerning the *AvrXa27-Xa27* pair, the score predicted for the EBE sequence ranked extremely low (indicating lower likelihood of binding) with the Talvez program (Pérez-Quintero et al. 2013). With respect to these results, we could wonder if the poor prediction scores for known TAL effector - *E* gene pairs do not reflect something biological ; there could be a selection on the bacterial side against a good match with an *E* promoter to avoid binding. Thus, by limiting the list of candidate genes to the top 1000 potential targets we could miss the one we are interested in, as it is possible that TalD RVDs poorly match to the EBE_{TalD}

sequence. Another possibility is that the gene inducing resistance in IR64 is a secondary target of TalD, and that TalD is inducing a transcription factor, at a low expression level, that will in turn induce the expression of an *R* gene whose expression will be higher than in the mock and/or susceptible conditions. This hypothesis would explain why a perfect match cannot be found in the different list of gene candidates between RNAseq, mapping and, TALE binding site predictions.

However, some of our candidates are interesting even if they don't match all the conditions. In a scenario where the gene responsible for resistance is targeted by TalD in both conditions (resistance and disease), but that the resistance activity is due to polymorphisms in the coding region, the gene *OsIR64_03g045980* coding for a SPL6 transcription factor would be a promising candidate. Squamosa Promoter binding Protein-Like (SPL) family genes encode transcription factors with a highly conserved DNA binding domain, known as SBP domain, and a bipartite nuclear localization signal motif, also highly conserved through the *SPLs* family (Klein et al. 1996; Cardon et al. 1999; Yamasaki et al. 2006). SPLs are usually known to be involved in the regulation of diverse processes, as plant growth, development, phytohormone signaling and stress responses (Zhong et al. 2019). In a previous study, an SPL6 transcription factor was reported in *Nicotiana benthamiana* to associates with the tobacco N immune receptor, an NLR protein that provides immunity against *Tobacco mosaic virus* (TMV). This association being detected only in the presence of the TMV effector, p50, it suggests that NbSPL6 is required for defense against TMV (Padmanabhan et al. 2013). Moreover, the presume ortholog of NbSPL6 in *Arabidopsis thaliana*, AtSPL6, has been pointed out to be required for the TIR-NB-LRR RPS4 immune receptor function against *Pseudomonas syringae* pv tomato (*Pst*) expressing the avrRps4 effector (Padmanabhan et al. 2013). Another candidate executor gene with a potential EBE for TalD is the CIPK3 serine-threonine protein kinase (*OsIR64_07g032900*) which is differentially expressed between the WT strain BAI3 and the mutant strain BAI3 Δ *talD*, but also in IR64 and Nipponbare, the resistant variety and the susceptible one. This candidate gene, unlike SPL6, has the exact same protein sequence in IR64 and Nipponbare. CIPK serine-threonine protein kinases are known to interact with calcineurin B-like (CBL) proteins. The latters are calcium sensor proteins that bind to the regulatory NAF domain of CIPK proteins, leading to the activation of the kinases in a calcium-dependent manner (Shi et al. 1999; Kim et al. 2000). The CBL-CIPK complex has been reported to be involved in various abiotic and biotic stress signaling, and more particularly in plant defense signaling in response to microbial infection (Pandey et al. 2014; Wang et al. 2016). Knowing that CIPKs form a complex with CBLs (Shi et al. 1999; Kim et al. 2000), it can be assumed that the protein sequence of the CIPK-interacting protein (CBL) is different in the two varieties, leading in one case to a resistance mechanism (IR64), and in another case to disease, due to lack of interaction between CIPKs and

CBLs (Nipponbare). Moreover, in a previous study it has been shown that OsCIPK31 interacts with diverse substrates in order to promote rice resistance against *Magnaporthe oryzae*, such as CBL2, CBL6, a VOZ transcription factor and the rice potassium channel protein OsAKT1 (Lin et al. 2021), hence expanding the list of candidate CIPK-interacting proteins. In addition, another study, reported the induction of two WRKY proteins, WRKY38 and WRKY62, by the salicylic acid-signaling activator, NPR1, activated and phosphorylated by CIPK11 after a bacterial infection (Xie et al. 2010). Regarding these two genes (*OsSPL6* and *OsCIPK3*), they encode a transcription factor and a kinase protein whose protein families are known to be involved in the activation of downstream pathways related to stress responses (Kolukisaoglu et al. 2004; Wang et al. 2018). Even if these genes are differentially expressed in both resistant and susceptible conditions, it is likely they induce, directly or not, a gene present in the QTL interval of *qABB-11* and which is either only present in the IR64 genome, or which has polymorphism in its coding sequence.

Regarding the genes in Table 4 differentially expressed in at least one of the three technical replicates, three of them *OsIR64_11g033220*, *OsIR64_11g032900* and *OsIR64_11g033060*, have been identified in two of the three replicates. These genes can be considered as good candidates for a novel type of BLB resistance gene as they are differentially expressed only in IR64 variety and they are located in the QTL interval of *qABB-11* revealed by MAI1 and BAI3 African *Xoo* strains. *OsIR64_11g033220*, coding for a GRAS-domain containing protein, represents a family of proteins which function as transcriptional regulators and play critical roles in development and signaling. GRAS-domain containing proteins are known to possibly interact with different types of transcription factors (TFs), such as basic helix-loop-helix type like Phytochrome interacting factors (PIFs), Spatula (STP), Alcatraz (ALC), and others classes of TFs, as Brassinazole Resistant1 (BZR1)/BES1, Ethylene Insensitive 3 (EIN3) or SPLs (Hakoshima 2018). *OsIR64_11g032900* encodes a putative xylanase inhibitor protein 1. Xylan is the major hemicellulose polymer in cell wall of cereals. To inhibit the hydrolytic activity of fungal and bacterial enzymes, like xylanase, from degrading the cell wall, plants produce xylanase inhibitors (Moscetti et al. 2015). A few studies reported that plants are able to sense the loss of cell wall integrity caused by the pathogen, and subsequently activate the defense signaling pathways (Bellincampi et al. 2014). Concerning *OsIR64_11g033060* gene, it produces non-coding RNAs, also named ncRNAs, they are usually grouped in two main classes: small (smRNAs) and long ncRNAs (lncRNAs). The first class is generally composed of RNA of less than 40 nucleotides (nts) in length which are involved in plant development and stress responses (Axtell 2013; Chitwood and Sinha 2014; Xie et al. 2015), whereas lncRNAs consist of 200 nts long, or more, RNA molecules, which do not encode any proteins. This second class of ncRNA are believed to be implied in different regulatory

mechanisms, such as histone and chromatin modifications, transcriptional regulation, target mimicking of miRNAs and post-transcriptional alterations (Yu et al. 2020).

Conclusions and Perspectives

Previously, we demonstrate the avirulence activity of TalD on IR64 (Lachaux et al. preprint). Here we report that this TALE depends on its activation domain to promote resistance, implying that TalD resistance in IR64 relies on the induction of an *E* gene. Through the combination of transcriptome analyses, binding-site prediction and mapping approach, candidate genes involved in the IR64 resistance against MAI1 and/or BAI3 were identified.

The next steps towards validation of these candidate genes are first to verify by RT-qPCR their induction in IR64 and Nipponbare, in infection condition (MAI1 or BAI3) vs. mock condition. If a candidate gene is also induced in Nipponbare, we will have to look more carefully at the coding sequence to see if there are polymorphisms between IR64 and Nipponbare sequences (as for the SPL6 protein), and for a possible secondary target of this gene that would be different between IR64 and Nipponbare. Afterwards, designer TALEs (dTALEs) could be generated and transformed into a virulent recipient, as PXO99^A, to see if there is a gain of resistance of IR64 by inducing these candidates. However, if a gain of resistance is observed upon the inoculation of one dTALE, it could be due to the induction of another gene ("off-target"). To avoid this risk, it will be necessary to design and test one or two other dTALEs targeting different sequences in the candidate gene promoter. We could also complement these previous analyses with ChIP-seq approach to improve the list of candidate genes targeted by TalD, or any other TALEs of MAI1 and BAI3.

Material and Methods

Bacterial strains and growth conditions

The bacterial strains used in this study are summarised in the Table X. *Xoo* strains were cultivated at 28°C in PSA medium (10 g peptone, 10 g sucrose, 1 g glutamic acid, 16 g agar, l⁻¹ H₂O). Rifampicin, kanamycin and gentamicin were added when appropriate to the medium at a final concentration of 100 µg/ml for each.

Plant material and plant inoculations

The resistant rice *indica* variety IR64, the susceptible *japonica* variety Nipponbare and the *japonica* landrace Azucena were used in this study. Experiments were performed under greenhouse conditions under cycles of 12 h of light at 28°C and 80% relative humidity (RH) and 12 h of dark at 25°C and 70% RH. Leaves of 3-week-old plants of IR64 and Nipponbare were inoculated by leaf-infiltration method (Schaad et al. 1996) with a bacterial suspension of an OD_{600nm} of 0.5. Three plants of each variety were inoculated with the *Xoo* strains MAI1, BAI3, BAI3 Δ *talD*(EV) and BAI3 Δ *talD*(*ptalD*) and with water as a "Mock" control, and the experiment was repeated three times. Leaves of 5-week-old plants were inoculated with the following *Xoo* strains MAI1, BAI3, BAI3 Δ *talD*(EV), BAI3 Δ *talD*(*ptalD*) and BAI3 Δ *talD*(*ptalD* Δ AD) by leaf-clipping method on IR64 and Azucena with a bacterial suspension of an OD_{600nm} of 0.2. Lesion lengths were scored 15 days post inoculation (dpi) on a minimum of eight plants, and the experiment was repeated three times.

RNA isolation and qRT-PCR

Leaves of 3-week-old rice plants were infiltrated with water or *Xoo* strains using an OD₆₀₀ of 0.5. At 24 hours post-inoculation, leaf segments from three plants were ground into a fine powder using the Qiagen Tissue-Lyser system (30 rps for 30 s, two times). Total RNA was isolated from rice leaves using Quiagen RNeasy plant mini kit following the manufacturer's recommendations (Quiagen). cDNA was generated from 1.6 µg RNA using the SuperScript ® III First-Strand Synthesis System for RT-PCR following the manufacturer's recommendations (Invitrogen). Real-time PCR was performed on the Mx3005p multiplex quantitative PCR system (Stratagene, La Jolla, CA, USA), using 3.5 µl of the Mesa blue 2X PCR MasterMix for SYBR® Green (Eurogentec, <http://www.eurogentec.com>), 2 pmol forward primer, 2 pmol reverse primer and 2 µl of the RT product diluted 10 times. For each gene, three independent biological replicates were analyzed. cDNA amounts were normalized using actin as housekeeping gene.

Bioinformatic analyses

STAR (Spliced Transcripts Alignment fo a Reference) software (Dobin et al. 2013) was used to map reads against the *Oryza sativa* cv. Nipponbare (version MSU7) and cv. IR64 (Rice Genome Hub platform versions; (Zhou et al. 2020) genomes. The count values for each transcripts generated were obtained using HTseq-count (Anders et al. 2015), and their differential expression was assessed using EdgeR (adjusted p.value = 0.1) (Robinson et al. 2009) and DESeq2 (adjusted p. value = 0.1) (Love et al. 2014).

Regarding EBE prediction, the software Talvez v.3.2 (default parameters) (Pérez-Quintero et al. 2013) used the 1000 bp located upstream of the translation start site of each gene to predicted binding sites for TalD in the two rice genomes. The top 1000 predicted targets with best score were kept for analyses.

Expression Analysis by Western Blotting

The *Xoo* strains carrying plasmid encoding native TALE or empty vector (pSKX1), were grown in liquid PSA medium supplemented with the corresponding antibiotics at 28°C. Cells of 1 ml of a bacterial suspension at an OD₆₀₀ of 0.4 were harvested and lysated with Laemmli buffer. TALE expression was analyzed by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of 4-15% and immunoblotted using the anti-TALE polyclonal antibody produced by (Read et al. 2016) followed by a horseradish peroxidase conjugated rabbit secondary antibody (Sigma-Aldrich). Detection was carried out using the Thermo Scientific™ Pierce™ ECL 2 Western Blotting Substrate kit and a Typhoon™ FLA 9500 (General Electric Healthcare Life Sciences, USA) for imaging.

References

- Anders S, Pyl PT, Huber W (2015) HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* 31:166–169. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTU638>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Axtell MJ (2013) Classification and comparison of small RNAs from plants. *Annu Rev Plant Biol* 64:137–159. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120043>
- Bellincampi D, Cervone F, Lionetti V (2014) Plant cell wall dynamics and wall-related susceptibility in plant-pathogen interactions. *Front. Plant Sci.* 5:228
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512. <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Cardon G, Höhmann S, Klein J, et al (1999) Molecular characterisation of the Arabidopsis SBP-box genes. *Gene* 237:91–104. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00308-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00308-X)
- Chen L-Q (2014) SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. *New Phytol* 201:1150–1155. <https://doi.org/10.1111/NPH.12445>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chitwood DH, Sinha NR (2014) Plant development: Small RNAs and the metamorphosis of leaves. *Curr Biol* 24:R1087–R1089. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.013>
- Cox KL, Meng F, Wilkins KE, et al (2017) TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. *Nat Commun* 8:15588. <https://doi.org/10.1038/ncomms15588>
- Cui H, Tsuda K, Parker JE (2015) Effector-Triggered Immunity: From Pathogen Perception to Robust Defense. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040012> 66:487–511. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ARPLANT-050213-040012>
- Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, et al (2013) STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics* 29:15–21. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTS635>
- Droc G, Dereeper A, Ruiz M, et al (2019) The south green rice genome hub

- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gu K, Sangha JS, Li Y, Yin Z (2008) High-resolution genetic mapping of bacterial blight resistance gene Xa10. *Theor Appl Genet* 116:155–163. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0655-5>
- Gu K, Tian D, Yang F, et al (2004) High-resolution genetic mapping of Xa27(t), a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 108:800–807. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1491-x>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Hakoshima T (2018) Structural basis of the specific interactions of GRAS family proteins. *Febs Lett* 592:489. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12987>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Jacques M-A, Arlat M, Boulanger A, et al (2016) Using Ecology, Physiology, and Genomics to Understand Host Specificity in *Xanthomonas*. *Annu Rev Phytopathol* 54:163–187. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100147>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Kim KN, Cheong YH, Gupta R, Luan S (2000) Interaction Specificity of Arabidopsis Calcineurin B-Like Calcium Sensors and Their Target Kinases. *Plant Physiol* 124:1844–1853. <https://doi.org/10.1104/PP.124.4.1844>
- Klein J, Saedler H, Huijser P (1996) A new family of DNA binding proteins includes putative transcriptional regulators of the *Antirrhinum majus* floral meristem identity gene SQUAMOSA. *Mol Gen Genet* 250:7–16. <https://doi.org/10.1007/BF02191820>
- Kolukisaoglu Ü, Weigl S, Blazevic D, et al (2004) Calcium Sensors and Their Interacting Protein Kinases: Genomics of the Arabidopsis and Rice CBL-CIPK Signaling Networks. *Plant Physiol* 134:43–58. <https://doi.org/10.1104/pp.103.033068>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>
- Lin QJ, Kumar V, Chu J, et al (2021) CBL-interacting protein kinase 31 regulates rice resistance to blast disease by modulating cellular potassium levels. *Biochem Biophys Res Commun* 563:23–30. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.05.065>

- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Love MI, Huber W, Anders S (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol* 15:1–21. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Moscetti I, Faoro F, Moro S, et al (2015) The xylanase inhibitor TAXI-III counteracts the necrotic activity of a *Fusarium graminearum* xylanase in vitro and in durum wheat transgenic plants. *Mol Plant Pathol* 16:583–592. <https://doi.org/10.1111/mpp.12215>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Padmanabhan MS, Ma S, Burch-Smith TM, et al (2013) Novel Positive Regulatory Role for the SPL6 Transcription Factor in the N TIR-NB-LRR Receptor-Mediated Plant Innate Immunity. *PLoS Pathog* 9:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003235>
- Pandey GK, Kanwar P, Pandey A (2014) Global Comparative Analysis of CBL-CIPK Gene Families in Plants. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-09078-8>
- Pérez-Quintero AL, Rodríguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK (2009) edgeR: A Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics* 26:139–140. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Römer P, Recht S, Lahaye T (2009) A single plant resistance gene promoter engineered to recognize multiple TAL effectors from disparate pathogens. *Proc Natl Acad Sci* 106:20526–20531. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0908812106>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Schaad N, Wang Z, Di M, et al (1996) An improved infiltration technique to test the pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice seedlings
- Schorneck S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>

Shi J, Kim KN, Ritz O, et al (1999) Novel Protein Kinases Associated with Calcineurin B–like Calcium Sensors in Arabidopsis. *Plant Cell* 11:2393–2405.
<https://doi.org/10.1105/TPC.11.12.2393>

Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to Xanthomonas oryzae pv. oryzae. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>

Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>

Wang QL, Sun AZ, Chen ST, et al (2018) SPL6 represses signalling outputs of ER stress in control of panicle cell death in rice. *Nat Plants* 4:280–288. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0131-z>

Wang Y, Sun T, Li T, et al (2016) A CBL-Interacting Protein Kinase TaCIPK2 Confers Drought Tolerance in Transgenic Tobacco Plants through Regulating the Stomatal Movement. *PLoS One* 11:e0167962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167962>

Wu L, Mei LG, Sreekala C, 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. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123356>

Xie C, Zhou X, Deng X, Guo Y (2010) PKS5, a SNF1-related kinase, interacts with and phosphorylates NPR1, and modulates expression of WRKY38 and WRKY62. *J Genet Genomics* 37:359–369. [https://doi.org/10.1016/S1673-8527\(09\)60054-0](https://doi.org/10.1016/S1673-8527(09)60054-0)

Xie F, Jones DC, Wang Q, et al (2015) Small RNA sequencing identifies miRNA roles in ovule and fibre development. *Plant Biotechnol J* 13:355–369. <https://doi.org/10.1111/pbi.12296>

Yamasaki K, Kigawa T, Inoue M, et al (2006) An Arabidopsis SBP-domain fragment with a disrupted C-terminal zinc-binding site retains its tertiary structure. *FEBS Lett* 580:2109–2116. <https://doi.org/10.1016/J.FEBSLET.2006.03.014>

Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>

Yu Y, Zhou YF, Feng YZ, et al (2020) Transcriptional landscape of pathogen-responsive lncRNAs in rice unveils the role of ALEX1 in jasmonate pathway and disease resistance. *Plant Biotechnol J* 18:679–690. <https://doi.org/10.1111/pbi.13234>

Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>

Zhong H, Kong W, Gong Z, et al (2019) Evolutionary Analyses Reveal Diverged Patterns of SQUAMOSA Promoter Binding Protein-Like (SPL) Gene Family in *Oryza* Genus. *Front Plant Sci* 0:565. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.00565>

Zhou Y, Chebotarov D, Kudrna D, et al (2020) A platinum standard pan-genome resource that represents the population structure of Asian rice. *Sci Data* 2020 71 7:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41597-020-0438-2>

Discussion générale

I. Le rôle central des effecteurs de type TAL dans le genre *Xanthomonas*

Les TALE étant des facteurs de virulence majeurs au sein de nombreuses espèces du genre *Xanthomonas*, les plantes hôtes ont développé au cours du temps différents subterfuges pour utiliser ces derniers contre le pathogène lui-même. Qualifiés alors de facteurs d'avirulence, les TALE se retrouvent à induire l'expression de gènes dits exécuteurs, promouvant des réactions de résistance de la plante (Zhang et al. 2015). Avant les études menées au cours de cette thèse, aucun gène d'avirulence n'avait encore été identifié chez des souches Africaines de *Xoo*, c'est pourquoi l'identification chez une souche Africaine de *Xoo*, durant ces travaux, de quatre gènes *tal* candidats ayant une activité d'avirulence, et la confirmation pour deux d'entre eux, a permis une grande avancée dans la caractérisation des effecteurs TAL Africains. Nous avons par ailleurs démontré que les domaines d'activation de la transcription de TalI et TalD étaient nécessaires à la réaction de résistance, suggérant donc l'induction de gènes exécuter. A ce jour, tous les gènes d'avirulence connus chez *Xoo* codent pour des effecteurs TAL (Tableau 5), à l'exception de *raxX* qui code pour un petit peptide sulfaté qui se lie directement avec une grande affinité au récepteur kinase (RLK-LRR) XA21 (Pruitt et al. 2015; Luu et al. 2019). Ainsi, les résultats obtenus au cours de cette thèse mettent en avant, une fois de plus, l'importance des TALE dans l'interaction avec leur hôte, et confirment qu'aborder la recherche de résistance à *Xanthomonas* en utilisant les TALE comme sonde est une approche fiable.

En 2000, Yang et ses collaborateurs démontrent que la région centrale des TALE permet à ces derniers de se lier à l'ADN et détermine les gènes ciblés (Yang et al. 2000). Quelques années plus tard, la découverte du code régissant la fixation des TALE à l'ADN s'en suit (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) et promeut la création de multiples logiciels de prédiction d'EBE, tels que TALE-NT et Talvez (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013) parmi tant d'autres, favorisant par la suite l'identification de plusieurs gènes cibles. Le mécanisme de fixation des TALE étant de plus en plus étudié, on découvre que ces derniers sont capables d'induire des gènes en ciblant des EBE situées aussi sur le brin opposé (Wang et al. 2017). En 2019, un nouveau logiciel, nommé PrediTALe, prend en compte la dépendance putative entre les RVD adjacents et celle entre le premier RVD et la position zéro de la boîte cible (EBE), pour améliorer les prédictions de gènes ciblés (Erkes et al. 2019). Récemment, Erkes et ses collaborateurs étendent les capacités de cet outil afin qu'il prenne en compte l'accessibilité de la chromatine et l'état de méthylation de l'ADN pour la prédiction des boîtes cibles (Erkes et al. 2021).

Les TALE sont des effecteurs polyvalents développés par l'agent pathogène afin de cibler différentes séquences promotrices du génome de la plante hôte et induire une diversité de gènes cibles. Ces dernières années le domaine central de liaison à l'ADN des TALE a largement été étudié, mais la façon dont la machinerie de transcription de l'hôte est recrutée et si d'autres éléments sont nécessaires à ce mécanisme est une question qui subsiste. Les effecteurs TAL nous réservent encore bien des surprises, telles que de nouvelles cibles de résistance ou de sensibilité, de nouveaux dispositifs d'action pour lutter contre les réponses de défense de la plante (e.g. iTALE/truncTALE). Ainsi, afin de mieux comprendre ces mécanismes et pouvoir davantage contrôler la résistance, approfondir les études sur les TALE est nécessaire, et nous savons qu'un long chemin reste à parcourir.

II. Quelle est la meilleure approche pour identifier des gènes de résistance à *Xanthomonas* ?

A ce jour, il existe plusieurs catégories de gènes de résistance connus pour être induits par *Xanthomonas*. Par exemple, parmi les 12 gènes de résistance à *Xoo* qui ont été clonés, 9 induisent des résistances TALE-dépendantes. Ces dernières se regroupent en trois catégories: i) les résistances récessives provenant d'une perte de sensibilité, dues au polymorphisme de l'EBE au sein du promoteur d'un gène *S*, rendant ce dernier non-inductible par le TALE correspondant, ii) les résistances qui dépendent de l'induction d'un gène *R* par un TALE (gène *E*), et sans oublier iii) les résistances liées à l'activité de gènes *R* de la famille des NB-LRR.

En sachant que l'expression des gènes ciblés par les TALE est modifiée lors de l'interaction plante-pathogène (Strauß et al. 2012), et grâce à la découverte du code TALE-ADN (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009), de nombreuses approches de transcriptomique combinées à de la prédiction de cibles *in silico* ont pu être entreprises afin d'identifier de nouveaux gènes ciblés par les TALE dans différentes plantes hôtes. En 2012, une étude pionnière combinant une approche de RNAseq à des analyses de prédictions d'EBE a conduit à l'isolement chez la tomate du gène de résistance *Bs4C* ; le premier gène exécuteur identifié par approche de transcriptomique, induit par le TALE AvrBs4 de *X. euvesicatoria* (Strauß et al. 2012). L'analyse de transcriptome est une approche qui permet de détecter les gènes différentiellement exprimés et par conséquent les gènes potentiellement ciblés par les TALE. Cette approche permet aussi d'observer le changement d'expression d'un ensemble de gènes dérivant de cette cascade d'induction TALE-dépendante. Toutefois, l'approche RNAseq a ses limites, et bien que les gènes *E Bs4C* et *Xa7* (Strauß et al. 2012; Luo et al. 2021) aient été identifiés par cette voie, à ce jour, le profil d'expression des gènes *E* est encore peu étudié et peu compris; et si le profil d'expression, en intensité et au cours du temps, des gènes *E* est similaire, ou non, à celui des gènes *S*, qui sont fortement dérégulés, reste encore à être

démonstré. Il est possible que l'expression, même faible, d'un gène toxique pour la plante soit suffisante pour empêcher la bactérie de se multiplier. En outre, la combinaison d'un gène *E*, même exprimé faiblement, avec d'autres gènes pourrait permettre d'établir une résistance au sein de la plante hôte. La résistance quantitative se traduit par l'effet cumulé de plusieurs gènes (St.Clair 2010), ce qui pourrait d'un point de vue transcriptomique se manifester par un ensemble de gènes faiblement dérégulés. Par ailleurs, certains types de résistances comme celles reposant sur le gène *Bs4*, codant pour un NB-LRR constitutivement induit chez la tomate, ainsi que les gènes non-exécuteurs *Xa4*, *Xa21* et *Xa3/Xa26*, codant pour des protéines de la famille des RLK chez le riz, ne peuvent donc pas être mises en évidence par des approches de type RNAseq. Ces gènes de résistance n'appartenant pas à la famille des gènes *E* ont d'ailleurs été identifiés par une approche de cartographie génétique (Song et al. 1995; Yoshimura et al. 1998; Ballvora et al. 2001; Sun et al. 2003, 2004). Ce genre d'approche est utilisé depuis de nombreuses années pour caractériser, entre autres, des sources de résistance à divers pathogènes. Par exemple, des populations de double-haploïdes dérivant du croisement F₁ entre IR64 et Azucena ont permis la mise en évidence de plusieurs QTL conférant la résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV pour "Rice Yellow Mottle Virus"), ainsi qu'à la pyriculariose, dont l'agent pathogène est *M. oryzae* (Albar et al. 1998; Sallaud et al. 2003). De plus, une population de lignées dite MAGIC (pour "Multi-parent Advanced Generation Inter-Cross") provenant du croisement de huit variétés de riz *indica*, a permis d'identifier 18 QTL de résistance à *Xoo* (Huerta et al. 2021). Dans le contexte de cette thèse nous avons décidé de nous appuyer sur des analyses de cartographie génétique reposant sur le criblage d'une population de lignées recombinantes (RIL pour "Recombinant Inbred Lines") de génération F₁₁, provenant du croisement entre les variétés IR64 et Azucena. Ce criblage avait pour but de caractériser la résistance induite chez IR64 par MAI1 et BAI3. L'un des avantages de la cartographie est que cette approche sans a priori permet de mettre en lumière diverses sources de résistance qui, nous concernant, pourraient être TALE et non-TALE dépendantes.

Récemment, le gène exécuteur *Xa7*, provoquant la résistance du riz aux souches de *Xoo* porteuses des TALE AvrXa7 et PthXo3, a été cloné par plusieurs équipes simultanément (Chen et al. 2021; Luo et al. 2021; Wang et al. 2021). L'identification de *Xa7*, sur le chromosome 6, par ces équipes a commencé par une approche de cartographie il y a plus de 10 ans de cela (Porter et al. 2003; Chen et al. 2008; Zhang et al. 2009). Wang et ses collaborateurs ont par la suite utilisé une banque de clones BAC, couvrant l'intervalle révélé par les études de cartographie fine, ce qui leur a permis de mettre en lumière l'insertion d'une séquence d'environ 100 kb entre le génome de référence Nipponbare et la lignée quasi-isogénique IRBB7, comportant la région où se situe *Xa7* (Figure 22). Au sein de ces 100 kb, 35 ORF ("open reading frames") étaient prédites. En utilisant le logiciel de

prédiction d'EBE TALgetter (Grau et al. 2013), deux boîtes cibles pour le gène d'avirulence *avrXa7* ont été prédites, dont l'une se trouvait à 110 pb du codon d'initiation d'un gène candidat (Figure 22). Wang et ses collaborateurs ont décidé par la suite de valider ce candidat par une approche de gain-de-fonction consistant à transformer une variété de riz sensible à *Xoo* avec des clones comportant chacun une séquence, alliant le promoteur et/ou le gène candidat, de taille variable (Figure 23; Wang et al. 2021). D'un autre côté, la stratégie utilisée par Chen et ses collaborateurs, après avoir réduit l'intervalle de cartographie à 51 kb chez Nipponbare (Figure 24.A), a été de construire une banque de fosmides; chaque construction pouvant contenir jusqu'à 40 kb du génome de la variété résistante, Zhen-hui 084, portant *Xa7*. Après criblage par PCR de chaque fosmid, cinq clones ont été sélectionnés pour couvrir la totalité de la région *Xa7* (Figure 24.B). Contrairement à l'intervalle de 51 kb révélé chez Nipponbare, la région comportant *Xa7* chez Zhen-hui 084 était de 116 kb, et identique à cette même région chez IRBB7. Par la suite, une banque de mutants composée de plus de 20 000 lignées Zhen-hui 084 a été criblée, et parmi ces dernières une seule possédant une délétion de 107 kb dans la région *Xa7* s'est révélée être sensible aux souches de *Xoo* portant l'effecteur *AvrXa7* (Figure 24.C). En croisant les séquences des 116 kb révélés par les analyses de cartographie fine avec les 107 kb de délétion dans la lignée mutante (*zsm-2*), 28 kb se superposaient et révélèrent 7 gènes candidats (Figure 24.C). Chen et ses collaborateurs entreprirent alors la complémentation fonctionnelle d'une variété sensible à *Xoo* avec chacun de ces gènes candidats, ce qui les mena à l'identification de *Xa7* (Figure 24.D; Chen et al. 2021). Dans le cas de Luo et ses collaborateurs, les analyses de cartographie réduisant l'intervalle à 41 kb et 74 kb, respectivement chez Nipponbare et IRBB7, ont été suivies d'une approche de séquençage d'ARN nommée RAMPAGE (pour "RNA Annotation and Mapping of Promoters for the Analysis of Gene Expression") qui combine l'annotation des ARNm avec la cartographie de leur promoteur respectif (Figure 25.A; (Batut and Gingeras 2013; Raborn and Brendel 2019)). Par la suite, la création de mutations via la technologie CRISPR-Cas9 dans le gène candidat, mis en avant par la précédente analyse dans la variété NB7, qui provient du croisement entre Nipponbare et IRBB7, a permis de valider l'implication de ce dernier dans la résistance à *Xoo* (Figure 25.B). Pour terminer, Luo et ses collaborateurs ont mis en évidence, via les logiciels de prédiction d'EBE, Talvez et TALE-NT (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), une boîte cible pour chacun des TALE de *Xoo* *AvrXa7* et *PthXo3*, connus pour induire la résistance dans les variétés porteuses de *Xa7* (Hopkins et al. 1992; Luo et al. 2021).

En résumé, il s'avère qu'une combinaison des différentes approches énoncées ci-dessus semble être la solution idéale afin de parvenir à l'identification de gènes de résistance. C'est pourquoi, de notre côté nous avons tenté d'utiliser une stratégie similaire à Luo et ses collaborateurs, en combinant les analyses de cartographie, avec celles de transcriptomique ainsi qu'avec des prédictions d'EBE pour

TalD, afin d'affiner la liste de gènes candidats. Cependant, ce travail de recherche de gènes candidats reste laborieux, en partie car nous n'avons pas encore assez de recul sur le profil d'expression des gènes impliqués dans une résistance quantitative, type de résistance qui semble être induite par BAI3 chez IR64. Il se peut que le potentiel gène *E* induit par TalD ne soit que faiblement dérégulé, mais que ceci soit suffisant pour que son action cumulée avec celles des autres QTL mis en avant par BAI3 provoquent une diminution des symptômes.

III. La course aux armements: quelles sont les stratégies évolutives mises en place par la plante et la bactérie pour survivre ?

a) Evolution des gènes de résistance chez les plantes : les NB-LRR

Le nombre de NB-LRR au sein des génomes végétaux varie fortement, allant de quelques dizaines chez le kiwi et la papaye (González et al. 2015; Zhang et al. 2016; Baggs et al. 2017), à plusieurs milliers chez le blé (Andersen and Nepal 2019). Dans certains cas, l'adaptation aux pathogènes est un des facteurs qui conduit à la diversification des NB-LRR au sein d'une même espèce, comme cela a été observé chez *A. thaliana* (Van de Weyer et al. 2019) et chez *Solanum pennellii* (la tomate sauvage) (Stam et al. 2016, 2019). Les protéines de résistance peuvent fonctionner directement ou indirectement comme des récepteurs de protéines effectrices sécrétées par les agents pathogènes dans les cellules hôtes (Dangl et al. 2013; Cesari et al. 2014). Pour éviter d'être détectés, les effecteurs évoluent rapidement par perte de gènes et/ou par mutation. Afin de contrer cette évolution les plantes ont développé des processus qui permettent de maintenir la diversité des NB-LRR et de déployer des "pièges à pathogènes" efficaces. Mais comment cette diversification des NB-LRR peut-elle être réalisée dans un court laps de temps évolutif ? Une partie de l'expansion des CNL (ou CC-NB-LRR pour "Coiled-Coil Nucleotide-Binding Leucine-Rich-Repeat") chez les Solanacées et les Poacées a été attribuée à l'activité des rétrotransposons à longue répétition terminale (LTR) (Kim et al. 2017). Par ailleurs, la nature répétitive des protéines NB-LRR elles-mêmes leur permet d'évoluer en utilisant i) leur capacité de recombinaison promouvant ainsi la conversion des gènes (Mondragon-Palomino and Gaut 2005; Serra et al. 2018), et ii) la machinerie de réplication pour les duplications locales (Leister 2004). Cependant, les conversions et la duplication de gènes ne suffisent pas à elles seules pour générer une nouvelle reconnaissance des pathogènes. Les recombinaisons inter- et intra- géniques, ainsi que les mutations ponctuelles (Mago et al. 2015; Lu et al. 2016), jouent un rôle majeur dans la diversification des NB-LRR.

Dans le cadre de cette thèse nous avons identifié plusieurs allèles apparents de *Xa1*, un NB-LRR provoquant de la résistance contre les souches de *Xoo* Africaines. Il s'avère que l'un d'entre eux, *Xo1*, se situe dans une région riche en NB-LRR (Read et al. 2020). Des études sur le gène de

résistance à la rouille des feuilles, *Lr21*, montrent que l'allèle fonctionnel de ce dernier est une chimère de deux haplotypes *lr21* non fonctionnels (H1, H2) (Huang et al. 2009). Le gène de résistance fonctionnel *Lr21* peut être reconstitué expérimentalement par recombinaison intramoléculaire des haplotypes non-fonctionnels H1 et H2, ce qui indique que de nouveaux gènes de résistance fonctionnels pourraient avoir évolué, à l'origine chez les espèces sauvages, par recombinaison d'haplotypes non fonctionnels existants (Krattinger and Keller 2016). Sachant cela, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'un mécanisme similaire a pu se produire pour la création de *Xa1* et de ses allèles apparents, expliquant le nombre varié de répétitions de chacun des allèles. Cette hypothèse fait sens si l'on tient compte que l'un de ces allèles, *Xo1*, a été identifié dans une zone du génome riche en gènes codant pour des NB-LRR, ce qui pourrait favoriser les recombinaisons intergéniques (Read et al. 2020).

b) Evolution des gènes *tal* chez *Xanthomonas*

L'une des principales forces motrices de l'évolution des TALE est la modification des promoteurs de la plante hôte visant à éviter l'activation des gènes de sensibilité situés sous leur contrôle, ou de permettre l'activation des gènes de résistance de type exécuteur. Ainsi, du côté de la bactérie des modifications au niveau de la séquence en RVD des TALE sont apportées permettant de rétablir l'activation des gènes de sensibilité ou d'éviter celle des gènes de résistance (Hutin et al. 2015). D'un point de vue mécanistique, les comparaisons de séquences des gènes *tal* ont montré que des évènements de recombinaison, des mutations ponctuelles (affectant les RVD), de la duplication et des insertions/délétions peuvent se produire au niveau des répétitions des gènes *tal* (Figure 26.A; (Erkes et al. 2017; Schandry et al. 2018). Cependant, des évènements de recombinaison peuvent aussi avoir lieu en dehors des répétitions (Denancé et al. 2018). Selon plusieurs études, la délétion/duplication des répétitions proviendrait d'erreurs de réplication en raison du haut degré de conservation des répétitions, ce qui pourrait entraîner la formation de boucles dans la fourche de réplication (Erkes et al. 2017), ou d'un mauvais appariement des brins glissés (Schandry et al. 2018). Les réarrangements génomiques des gènes *tal* seraient aussi dus à des mécanismes de transposition utilisant par exemple des séquences d'insertion (IS), des transposons de type Tn3 ou Tn*Xax1*, ou encore des intégrons (Figure 26.B; (Ferreira et al. 2015; Erkes et al. 2017; Ruh et al. 2017). Un exemple de recombinaisons inter-géniques entre les répétitions de différents *tal* de *Xanthomonas* est retrouvé avec les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, dont le groupe TalF possède certains RVD qui auraient recombinaison avec le groupe TalH et TalG (Figure 27 ; (Tran et al. 2018). Il a été proposé que les protéines contenant des répétitions soient très instables d'un point de vue évolutif car elles sont soumises à des taux de mutation très élevés lors des recombinaisons, ce qui entraîne des changements dans le nombre et l'ordre des répétitions (Mesarich et al. 2015). De

plus, il a été rapporté que les espèces de *Xanthomonas* ayant de grands TALomes comme *Xoo* (allant de 8 à 20 TALE) présentent de fréquents réarrangements (Ponciano et al. 2004; Schandry et al. 2018). Il semblerait donc que le fait d'avoir plus de répétitions disponibles conduirait à un processus d'évolution plus rapide.

En 2000, Vera Cruz et ses collaborateurs ont observé aux Philippines le contournement de la résistance médiée par *Xa7* par les souches Asiatiques de *Xoo* de la race 9. Dans cette étude, diverses stratégies de contournement mises en place par les souches de *Xoo*, ont pu être identifiées allant du réarrangement intra-génique, créant du polymorphisme au niveau du locus *avrXa7*, à la présence de mutations à l'extrémité 3' de *avrXa7*. Cependant, la race 9b, bien qu'ayant son agressivité légèrement augmentée sur les variétés de riz portant *Xa7*, comporte toujours un allèle intact de *avrXa7*. Au cours de cette étude, des analyses de Southern blot ont révélé un fragment de 4,2 kb s'hybridant à la sonde *tal*, qui pourrait s'avérer être l'élément ayant permis aux souches de la race 9b de se maintenir au champ année après année (Vera Cruz et al. 2000).

On en revient à cette course aux armements qui confronte le pathogène et son hôte, créant un besoin d'évoluer toujours plus rapidement afin de s'adapter. Suivant cette hypothèse, les populations de pathogènes bénéficieraient alors d'un arsenal d'effecteurs variés afin de contrer les changements génétiques de son hôte. Concernant les TALE, nous pouvons donc supposer que les effecteurs pour lesquels aucun rôle de virulence n'a encore été identifié serviraient de réservoir de recombinaison/mutation pour générer de nouveaux variants virulents lorsque le pathogène rencontre un nouvel hôte résistant (Yang et al. 2005).

IV. Quels sont les mécanismes qui régissent l'évolution des TALomes ?

Comme supposé précédemment avec l'évolution des gènes *tal*, l'évolution des TALomes, de leur diversité de taille et de composition, pourrait être le résultat de programmes de sélection et de déploiement rapide de cultivars résistants aux xanthomonades. Par exemple, le riz est une culture céréalière qui a fait l'objet d'une sélection intensive dans les pays asiatiques et ce depuis une longue période. En revanche, la sélection du riz dans les pays africains nous ramène à une période beaucoup plus récente (Vaughan et al. 2008). Cette différence peut être reliée à la disparité de taille des TALomes entre les souches Asiatiques et Africaines de *Xoo* qui comportent respectivement jusqu'à 19 et jusqu'à 9 TALE (Gonzalez et al. 2007; Salzberg et al. 2008). Concernant la différence de composition de ces derniers, dans lesquelles on ne retrouve aucun TALE similaire, ceci pourrait s'expliquer par les cultivars distincts utilisés en Asie et en Afrique menant les souches Africaines et Asiatiques de *Xoo* à être confrontées à sources de résistance contrastées. Il peut alors être proposé que l'expansion des TALomes est une caractéristique qui a été sélectionnée en réponse à la

résistance des plantes, car elle permet aux bactéries de développer des stratégies de contre-défense et de s'adapter rapidement aux nouveaux cultivars (Schandry et al. 2018).

Si l'expansion des TALomes est le résultat d'une adaptation pour contrer les défenses de la plante hôte, comment expliquer que chez certaines souches Africaines de *Xoo*, des *tal* tendent à disparaître ? (Diallo et al., in prep). Une étude réalisée sur une collection de souches de *Xoo* provenant du Burkina Faso a permis de révéler six nouveaux profils de TALome, en comparaison aux deux profils des souches Africaines de référence MAI1 et BAI3 provenant du Mali et du Burkina Faso, respectivement (Figure 28 ; Diallo et al., in prep). Parmi ces six nouveaux profils, cinq ne possèdent pas de groupe correspondant à TalH. Un des profils ne contient plus de groupe s'apparentant ni à TalF, ni à TalH, et un autre est démuné des groupes TalD et TalH. De plus, deux des six profils ont aussi perdu le groupe s'apparentant à TalI (Figure 28 ; Diallo et al., in prep). Si on compare avec les résultats obtenus au cours de ma thèse, il semblerait que les TALE d'avirulence identifiés (même si uniquement candidats), c'est-à-dire TalF, TalI, TalH et TalD, tendent à disparaître des TALomes africains. A l'inverse de l'expansion des TALomes, nous pouvons imaginer qu'ici la bactérie utilise une autre stratégie pour lutter contre les mécanismes de défenses de la plante en se débarrassant des effecteurs d'avirulence. Des exemples similaires ont été rapportés dans les cas des champignons *M. oryzae* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Des études démontrent que la présence d'un élément transposable dans les gènes d'avirulence *AVR-Pita* et *AVR1*, respectivement, cause leur inactivation et provoque ainsi un gain de virulence des pathogènes (Kang et al. 2001; Inami et al. 2012). Cependant, une étude préliminaire réalisée au cours de ma thèse, consistant à tester sur IR64 une souche de chaque nouveau profil de TALome identifié, a montré qu'aucune perte d'avirulence n'est associée à la disparition de TalD ou TalH, précédemment rapportés pour induire de la résistance sur cette variété.

V. Que nous reste-t-il à découvrir encore sur les TALE ?

Les TALE sont des protéines à la structure complexe dotées de capacités surprenantes pour des effecteurs bactériens. La découverte de leur existence s'en est suivie de la compréhension de leur structure si particulière, leur permettant d'aller jusqu'au noyau des cellules eucaryotes mais aussi de se fixer au double brin de l'ADN et ainsi d'agir comme des facteurs de transcription eucaryote. En 2009, le code permettant de comprendre l'interaction TALE-ADN est déchiffré (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009), ce qui aida au développement de la technologie TALEN permettant l'édition du génome plus aisément (Bogdanove and Voytas 2011). Grâce à leur capacité à fixer le promoteur de leur gènes cibles, et le développement de logiciel de prédiction de cibles *in silico* (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), les TALE ont aussi permis la découverte de gènes S

et la mise en évidence de nouveaux gènes *R* tels que les gènes *E* (Yang et al. 2006; Antony et al. 2010; Strauß et al. 2012; Wang et al. 2015). Nous pensions avoir déjà tout vu, tout compris. Puis vint la découverte de variants TALE, nommés iTALE ou truncTALE, qui possèdent des délétions dans leur parties N- et C-terminales et dont la région centrale semble toujours fonctionnelle (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). Ces variants TALE permettent d'atténuer les réponses de défenses de la plante causées par le NB-LRR *Xa1* et ses allèles, chez le riz (Ji et al. 2016, 2020; Read et al. 2016). Ces dernières découvertes interrogent sur ce que nous réservent encore ces effecteurs. Si nous savons à l'heure actuelle que les TALE induisent l'expression des gènes qu'ils ciblent, nous n'avons aucune idée sur leur potentielle capacité à réprimer l'expression des gènes. Par ailleurs, leur domaine central étant composé de régions répétées en tandem, nous pouvons supposer que les TALE interagissent avec d'autres protéines, comme le font les NB-LRR, afin de réguler leur activité (positivement ou négativement) (Cesari et al. 2014), ou d'être régulés eux-mêmes. Il a été rapporté qu'en l'absence de pathogènes, des miRNA et siRNA secondaires agissent dans la régulation de l'expression des gènes NB-LRR pour réprimer ces récepteurs immunitaires, puis pour restaurer leurs niveaux basaux dans les phases tardives de l'infection (Zhai et al. 2011; Shivaprasad et al. 2012; Li et al. 2012). Nous pourrions donc émettre l'hypothèse que certains TALE sont réprimés par des mécanismes similaires, ou bien que l'interaction entre des petits ARN et des TALE induise des réponses de défenses de la plante.

VI. Quelles sont les stratégies pour maintenir la résistance des cultures ?

Le type de résistance le plus fréquemment exploité pour les cultures économiques est la résistance gène pour gène (Flor 1971; Gururani et al. 2012). Cette dernière consiste en l'interaction d'une seule protéine de résistance (*R*) de la plante avec une seule protéine d'avirulence (*Avr*) du pathogène. Cette interaction provoque généralement une cascade de réponses de défenses menant le plus souvent à la mort cellulaire locale de la plante, permettant de piéger le pathogène. On peut noter que ce type de résistance est présent autant dans la nature, en l'absence d'anthropisation, que dans le domaine agricole (Barrett et al. 2009; Gururani et al. 2012). Toutefois, la simplicité du modèle gène pour gène (une seule protéine *R* conférant la résistance à tous les pathogènes possédant la protéine *Avr* correspondante) est également ce qui le rend si vulnérable. Pour que l'agent pathogène puisse échapper à la reconnaissance de l'hôte plusieurs mécanismes d'évitement peuvent être mis en place, allant de la simple mutation ponctuelle du gène *Avr* reconnu (Dong et al. 2014) à la délétion du gène entier (Wichmann and Bergelson 2004). De plus, la forte pression de sélection exercée par des hôtes génétiquement uniformes dans les cultures actuelles ne fait qu'accélérer l'évolution des agents pathogènes pour surmonter ces résistances monogéniques, dont l'efficacité dépasse rarement une décennie (McDonald and Linde 2002a; Brown 2015). L'une des clés pour éviter la propagation des

agents pathogènes est d'accroître la complexité des schémas de résistance (McDonald and Linde 2002b). Pour cela, l'association de plusieurs loci, qui contribuent de manière additive ou redondante à la résistance, forcerait l'agent pathogène à évoluer de manière à surmonter plusieurs sources de résistance génétiques distinctes. Diverses stratégies suivant ce principe peuvent être mises en place dans les systèmes de cultures. En partant de la plus simple à la plus complexe, la première méthode consiste à répartir des gènes, dont l'action est redondante, dans divers hôtes de telle sorte que l'ensemble de la population exprime uniformément la résistance, mais avec des bases génétiques sous-jacentes différentes (Mundt 2002; M'Barek et al. 2019). Ce concept peut aussi être transposé à l'échelle d'un seul et même individu qui porterait plusieurs gènes *R*, et est nommé pyramidage de gènes (Zhang et al. 2006; Zhu et al. 2012). Dans le contexte de cette thèse, nous avons mis en évidence un cas de pyramidage naturel de plusieurs sources de résistance aux souches de *Xoo* Africaines dans la variété de riz CT13432, reposant sur l'induction d'un gène exécuteur par *Tall*, ainsi que sur un mécanisme de résistance de type *Xa1*. Par ailleurs, il s'avère que des gènes de résistance à *M. oryzae*, agent causal de la pyriculariose, aient déjà été identifiés dans cette variété, faisant de cette dernière un excellent réservoir de sources de résistance pour créer des variétés améliorées pour l'Afrique. Cependant, il arrive que certains gènes *R* ne soient pas compatibles les uns avec les autres, menant parfois à une forme d'auto-immunité favorisant la résistance au détriment de la biomasse (Chae et al. 2014; Barragan et al. 2019).

La résistance gène pour gène est souvent qualifiée de résistance qualitative, impliquant que les phénotypes observés sont soit de la résistance, soit de la maladie. Cependant il existe d'autres types de résistances que l'on nomme quantitatives car les phénotypes qui en ressortent ne sont pas binaires, mais plutôt graduels. Les résistances quantitatives sont le reflet de l'action de plusieurs gènes, dont la contribution ne permet pas une absence de maladie, mais une réduction de cette dernière (Poland et al. 2009; St.clair 2010; Roux et al. 2014). Comme nous avons pu le caractériser au cours de cette thèse (chapitre 2) la résistance induite par *BAI3* chez *IR64* est la conséquence de l'effet de plusieurs loci. Ce genre de résistance est plus difficilement surmontable par un pathogène, de par le nombre de gènes impliqués mais aussi de par les interactions possibles entre eux et avec l'environnement. Il est donc primordial de caractériser ce type de résistance, bien que complexe, afin de pouvoir exploiter au maximum ces ressources génétiques pour lutter contre les pathogènes.

Conclusions & Perspectives

Au cours de cette thèse, pour la première fois chez des souches Africaines de *Xoo*, deux TALE possédant une activité d'avirulence, et qui induiraient l'expression d'un gène *E* ont été identifiés. D'autre part, un mécanisme de résistance à large spectre actif contre les souches Africaines de *Xoo* a été caractérisé dans plusieurs accessions de riz. Les travaux menés pendant cette thèse ont aussi permis de mettre en lumière plusieurs QTL conférant de la résistance aux souches Africaines MAI1 et BAI3 dans la variété de riz élite IR64. Et pour finir une série de gènes candidats sous-jacents à la résistance de IR64 à MAI1 et BAI3 a été identifiée.

Les résultats obtenus démontrent l'utilité de combiner les approches de gain- et de perte-de-fonction qui se sont révélées être complémentaires et qui ont permis une grande avancée dans la caractérisation du rôle des TALE Africains dans la résistance. L'identification de différents profils de résistance chez IR64 grâce à l'approche de cartographie nous aide à mieux comprendre les divers mécanismes de résistance induits par MAI1 et BAI3. De plus, ces résultats mettent en avant l'importance d'utiliser plusieurs approches telles que la cartographie, l'analyse de transcriptome et la prédiction de cibles, pour identifier des gènes candidats. Chaque jeu de données produit et analysé étant imparfait et ayant ses limites, la combinaison de ces approches permet d'augmenter la probabilité d'identifier le bon candidat. Pour aller plus loin dans l'étude de la résistance induite par TalI chez CT13432, il serait intéressant d'utiliser une approche de type ChIP-seq ("chromatin immunoprecipitation sequencing"). Cette dernière permet d'étudier les interactions ADN/protéine à l'échelle du génome en combinant l'immunoprécipitation de la chromatine avec le séquençage de fragments d'ADN ciblés par des protéines, dans notre cas TalI. Le croisement de ces données avec des analyses de RNAseq et de prédictions d'EBE, si le génome séquencé de cette variété était disponible, favoriserait l'identification du gène *E* induit par TalI. Cette méthode de type ChIP-seq pourrait aussi être utile pour parfaire la liste de gènes candidats déjà établie dans le cas de la résistance induite chez IR64 par TalD, mais potentiellement aussi par d'autres TALE de BAI3 et MAI1. Par la suite, il serait capital de tester les gènes candidats des différents QTL identifiés, tout d'abord en regardant leur niveau d'expression par qPCR, puis en créant des TALE artificiels pour voir si leur induction promeut de la résistance. Enfin, la création de lignées éditées dans ces gènes, ou la transformation de lignées sensibles avec ces gènes de résistance candidats permettrait de confirmer leur rôle.

In fine, il sera primordial d'évaluer le spectre de résistance conféré par les gènes *E* induit par TalI et TalD dans leur variété respective, afin de déterminer si ces gènes peuvent être déployés aux champs

pour lutter contre une large gamme de souches ou uniquement contre MAI1 et BAI3. Dans le but de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à ces résistances, il sera important de poursuivre la caractérisation des TALomes Africains, et plus particulièrement des gènes d'avirulence, afin de déployer des sources de résistance plus durables. L'évaluation de la durabilité des résistances identifiées dans cette étude est fondamentale pour les projets futurs, car comme rapporté précédemment une course aux armements perpétuelle se déroule entre les pathogènes et leur hôtes. C'est pourquoi à l'avenir, identifier et déployer des résistances quantitatives, relevant de l'interaction de plusieurs gènes entre eux et/ou avec l'environnement, mais aussi des variétés cumulant plusieurs gènes de résistance agissant indépendamment contre le même pathogène, sera indispensable afin de lutter contre les mécanismes d'échappement de certaines bactéries. Finalement, étudier les mécanismes d'évolution des répertoires d'effecteurs bactériens, tels que les TALE, via des analyses de type MLVA permettrait de mieux appréhender les stratégies de contournement de la résistance et d'assurer une durabilité pérenne dans les cultures.

Annexes

Confirmation report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* in Senegal

Hamidou Tall^{1,4}, Marlène Lachaux¹, Amadou Diallo^{1,2}, Issa Wonni², Cheick Tékété³, Valérie Verdier¹, Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, IRD, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²Institut de l'Environnement et Recherches Agricoles, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

³USTT-B, FST, DER, LaboREM-Biotech, Bamako, Mali.

⁴Institut Sénégalais de Recherches Agricole (ISRA), Kolda, Sénégal

Xanthomonas oryzae pv. *X. oryzicola* (*Xoc*), the causal agent of Bacterial Leaf Streak (BLS), is considered as one of the most important emerging pathogens of rice in Africa. This disease is estimated as responsible of 20 to 30% yield loss (Sileshi et Gebeyehu 2021) and has been characterized in several west African countries including Mali and Burkina Faso since 2003 and more recently in Ivory Coast (Wonni et al. 2014, Diallo et al. 2021). Presence of BLS symptoms in Senegal were reported by Trinh in 1980 but, to our knowledge, BLS occurrence has never been validated further and no strain of *Xoc* have ever been isolated from Senegalese rice fields. *Xoc* is transmitted by seeds which contribute to its spread through the rice trade (Sileshi et Gebeyehu 2021). To confirm Trinh's observations, we surveyed rice fields between 2014 and 2016 in eight different regions where rice is produced in Senegal. Typical disease symptoms characterized by yellow-brown to black translucent leaf streaks sometimes along with exudates, were detected in fields of several regions and collected. Leaf pieces were successively sanitized, rinsed in sterile water, and symptomatic fragments were ground using the Qiagen Tissue Lyser System (QIAGEN, Courtaboeuf, France). The leaf powder was diluted in 1.5 ml of sterile water and incubated for 30 minutes at room temperature. Ten µl of the suspension was streaked on semi-selective PSA medium and incubated at 28°C for 3 to 7 days. Characteristic round, convex, mucous, straw-yellow *Xoc* candidate colonies were purified from six individual leaf samples from three distinct sites in the northern Senegal River Valley. To confirm their identity, isolated strains were tested for pathogenicity and molecular characterization. All isolates were subjected to the multiplex PCR developed for the identification of *X. oryzae* pathovars (Lang et al., 2010) and revealed the same PCR profile (two amplicons of 324 and 691 base pairs) similar to that of the *Xoc* reference strain

BLS256. Leaves of 5-week-old plants of *O. sativa* cv. Kitaake were infiltrated with a needleless syringe containing a bacterial suspension set at an optical density of 0.5. Upon seven days of incubation under greenhouse conditions ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ with a 12-hour photoperiod), all infiltrated spots (2 spots on 3 plants per isolate) developed water-soaked lesions similar to those caused by control strain BLS256, except when leaves were infiltrated with water. Symptomatic leaf tissues were ground and plated on PSA medium, resulting in colonies with typical *Xanthomonas* morphology that were diagnosed as *Xoc* by multiplex PCR typing, thus fulfilling Koch's postulate. At last, four of the isolates were subjected to *gyrB* sequencing upon PCR amplification using the universal primers XgyrB1F and XgyrB1R (Young et al., 2008). Analysis of 780bp partial *gyrB* sequences of strains S18-3-4, S23-1-12, S52-1-4 and S52-1-10 highlighted 100% identity with the *gyrB* sequence of strain BLS256 (Acc. No. CP003057). To our knowledge, this is the first report of BLS in Senegal which is supported by molecular characterization methods. This study validates the presence of BLS in Senegal and will serve as a basis for future efforts of rice breeding for locally adapted resistance. More studies are needed to clarify the spatial distribution and prevalence of BLS in Senegal as rice cultivation is expanding rapidly in the country.

Acknowledgments.

We acknowledge funding from West Africa Agricultural Productivity Programme (WAAPP).

References:

- Diallo, A et al, 2021. « First report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* in Ivory Coast ». *Plant disease*; 0191-2917
- Lang, J et al, 2010. « Genomics-based diagnostic marker development for *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *X. oryzae* pv. *X. oryzicola* ». *Plant disease* 94 (3) : 311-19.
- Sileshi, G W, and Gebeyehu S. 2021. « Emerging infectious diseases threatening food security and economies in Africa ». *Global Food Security* 28 : 100479.
- Trinh, T T, 1980. « New Rice Diseases and Insects in the Senegal River Basin in 1978/79. » *International Rice Commission Newsletter* 29 (2).
- Wonni, I et al, 2014. « Analysis of *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* population in Mali and Burkina Faso reveals a high level of genetic and pathogenic diversity ». *Phytopathology* 104 (5): 520-31.
- Young, J M et al, 2008. « A multilocus sequence analysis of the genus *Xanthomonas* ». *Systematic and applied microbiology* 31 (5): 366-77.

>gyrB_S18-3-4

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGAGCGCCAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S23-1-12

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGAGCGCCAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S52-1-4

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGAGCGCCAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S52-1-10

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGAGCGCCAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_BLS256

tgatgaccgacgcccagctgacggctgcacatccgtacctgttgctgaccttcttctaccggcagatgccggagctgatcgagcgggctacatctatcggcctgccc
ccgctgtacaagctcaagcaggcaagagcgagctgtatctgaaggacgatgccgctcaacgcctacctggccagcaatgcggtggaaggtgaggcgctgattccggc
caccgacgagcccgatcaccggcgaagcgtggaaaaactgctgatgctgtaccagcgcacgaagcgattgcgcgcaacgcgaccgctacgaccggctttg
ctgaccgattgatgacctgcccggctggatgtggaactgcatgccgaaggcaaccgatccggccctggatgctgagcagtcagtcgcaatcgccgaccctg
ggcaccgcgctaccagttgcttcgaccggcactgagaacgcgctgcccagctggtggcgatccgctcatatggcggaagaattcaccaggtgctgcccgat
ggggcgcttcaagcggcgagctgctccgctgctgaggtatgctggccctgcatgatctggtgctgagggcgcgagatgctgctgcaacaagacc
gatcaccagcttcgagcagggcgacgctgctgctgacgagggcaagaaggccgacgcttcaagggcctggcggaatgaacgccgagcagctgtg
gaaaccacgg

Références bibliographiques

i) Introduction

- Abouelhoda M, El-Kalioby M, Giegerich R (2010) WAMI: a web server for the analysis of minisatellite maps. *BMC Evol Biol* 2010 10:1–9. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-167>
- Adachi H, Derevnina L, Kamoun S (2019) NLR singletons, pairs, and networks: evolution, assembly, and regulation of the intracellular immunoreceptor circuitry of plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 50:121–131
- Ádám AL, Nagy ZÁ, Kátay G, et al (2018) Signals of Systemic Immunity in Plants: Progress and Open Questions. *Int J Mol Sci* 2018, Vol 19, Page 1146 19:1146. <https://doi.org/10.3390/IJMS19041146>
- Ade J, DeYoung BJ, Golstein C, Innes RW (2007) Indirect activation of a plant nucleotide binding site–leucine-rich repeat protein by a bacterial protease. *Proc Natl Acad Sci* 104:2531–2536. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0608779104>
- Afolabi O, Milan B, Poulin L, et al (2014) First Report of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* Causing Bacterial Leaf Streak of Rice in Uganda. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0745-PDN> 98:1579. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0745-PDN>
- Afolabi T, Fundação RA, Cruz O, et al (2016) First Report of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* Causing Bacterial Leaf Streak of Rice in Burundi Diversity of blast, Rice Yellow Mottle Virus, *Pantoea* spp. and *Sphingomonas* spp. in Africa and screening rice germplasm for disease resistance View project Pathogen-Host interaction for Rice blast disease in Uganda View project. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-14-0504-PDN>
- Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- Al-Saadi A, Reddy JD, Duan YP, et al (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. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-20-8-0934> 20:934–943. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-8-0934>
- Albar L, Lorieux M, Ahmadi N, et al (1998) Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus. I. QTLs identification and relationship between resistance and plant morphology. *Theor Appl Genet* 1998 977 97:1145–1154. <https://doi.org/10.1007/S001220051003>
- Albar L, Ndjiondjop M-N, Eshak · Z, et al (2003) Fine genetic mapping of a gene required for Rice yellow mottle virus cell-to-cell movement. *Theor Appl Genet* 107:371–378. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1258-4>
- Alfano JR, Collmer A (2004) TYPE III SECRETION SYSTEM EFFECTOR PROTEINS: Double Agents in Bacterial Disease and Plant Defense.

<http://dx.doi.org/101146/annurev.phyto42040103110731> 42:385–414. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.42.040103.110731>

- Ali ML, Sanchez PL, Yu S bin, et al (2010) Chromosome segment substitution lines: A powerful tool for the introgression of valuable genes from *Oryza* wild species into cultivated rice (*O. sativa*). *Rice* 3:218–234. <https://doi.org/10.1007/s12284-010-9058-3>
- Allaby RG, Fuller DQ, Brown TA (2008) The genetic expectations of a protracted model for the origins of domesticated crops. *Proc Natl Acad Sci* 105:13982–13986. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0803780105>
- Alvarez-Martinez CE, Christie PJ (2009) Biological Diversity of Prokaryotic Type IV Secretion Systems. *Microbiol Mol Biol Rev* 73:775–808. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00023-09>
- Andersen EJ, Nepal MP (2019) Diversification of Disease Resistance Receptors by Integrated Domain Fusions in Wheat and its Progenitors. *bioRxiv* 695148. <https://doi.org/10.1101/695148>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Arumuganathan K, Earle ED (1991) Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol Biol Report* 1991 93 9:208–218. <https://doi.org/10.1007/BF02672069>
- Ashikawa I, Hayashi N, Yamane H, et al (2008) Two Adjacent Nucleotide-Binding Site–Leucine-Rich Repeat Class Genes Are Required to Confer Pikm-Specific Rice Blast Resistance. *Genetics* 180:2267–2276. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.095034>
- Aslam SN, Newman MA, Erbs G, et al (2008) Bacterial Polysaccharides Suppress Induced Innate Immunity by Calcium Chelation. *Curr Biol* 18:1078–1083. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2008.06.061>
- Aung K, Jiang Y, He SY (2018) The role of water in plant–microbe interactions. *Plant J* 93:771–780. <https://doi.org/10.1111/tpj.13795>
- Awoderu VA, Bangura N, John VT (2008) Incidence, distribution and severity of bacterial diseases on rice in West Africa. <http://dx.doi.org/101080/09670879109371553> 37:113–117. <https://doi.org/10.1080/09670879109371553>
- Axtell MJ, Staskawicz BJ (2003) Initiation of RPS2-Specified Disease Resistance in *Arabidopsis* Is Coupled to the AvrRpt2-Directed Elimination of RIN4. *Cell* 112:369–377. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00036-9)
- Azzam O, Chancellor TCB (2002) The Biology, Epidemiology, and Management of Rice Tungro Disease in Asia. 86:88–100
- Baggs E, Dagdas G, Krasileva K V. (2017) NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR IDentity. *Curr Opin Plant Biol* 38:59–67. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2017.04.012>

- Ballvora A, Pierre M, Van den Ackerveken G, et al (2001) Genetic mapping and functional analysis of the tomato Bs4 locus governing recognition of the *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* AvrBs4 protein. *Mol Plant-Microbe Interact* 14:629–638. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.5.629>
- Balmer D, Planchamp C, Mauch-Mani B (2013) On the move: induced resistance in monocots. *J Exp Bot* 64:1249–1261. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERS248>
- Bandillo N, Raghavan C, Muyco PA, et al (2013) Multi-parent advanced generation inter-cross (MAGIC) populations in rice: Progress and potential for genetics research and breeding. *Rice* 6:1–15. <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-11>
- Baptista JC, Machado MA, Homem RA, et al (2010) Mutation in the xpsD gene of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* affects cellulose degradation and virulence. *Genet Mol Biol* 33:146–153. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572009005000110>
- Bari R, Jones JDG (2009) Role of plant hormones in plant defence responses. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9435-0>
- Barragan CA, Wu R, Kim ST, et al (2019) RPW8/HR repeats control NLR activation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet* 15:e1008313. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008313>
- Barrett LG, Thrall PH, Dodds PN, et al (2009) Diversity and Evolution of Effector Loci in Natural Populations of the Plant Pathogen *Melampsora lini*. *Mol Biol Evol* 26:2499–2513. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSP166>
- Basler M, Mekalanos JJ (2012) Type 6 Secretion Dynamics Within and Between Bacterial Cells. *Science* (80-) 337:815–815. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1222901>
- Bastedo DP, Khan M, Martel A, et al (2019) Perturbations of the ZED1 pseudokinase activate plant immunity. *PLOS Pathog* 15:e1007900. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1007900>
- Bauer Z, Gómez-Gómez L, Boller T, Felix G (2001) Sensitivity of Different Ecotypes and Mutants of *Arabidopsis thaliana* toward the Bacterial Elicitor Flagellin Correlates with the Presence of Receptor-binding Sites *. *J Biol Chem* 276:45669–45676. <https://doi.org/10.1074/JBC.M102390200>
- Bayer-Santos E, DeMoraes Ceseti L, Farah CS, et al (2019) Distribution, function and regulation of type 6 secretion systems of Xanthomonadales. *Front Microbiol* 10:1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01635>
- Bayer-Santos E, Lima L dos P, Ceseti L de M, et al (2018) *Xanthomonas citri* T6SS mediates resistance to *Dictyostelium* predation and is regulated by an ECF σ factor and cognate Ser/Thr kinase. *Environ Microbiol* 20:1562–1575. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14085>
- Bellafiore S, Briggs SP (2010) Nematode effectors and plant responses to infection. *Curr Opin Plant Biol* 13:442–448. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2010.05.006>
- Bernard GC, Egnin M, Bonsi C (2017) The Impact of Plant-Parasitic Nematodes on Agriculture and Methods of Control. *Nematol - Concepts, Diagnosis Control*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.68958>

- Bethke G, Pecher P, Eschen-Lippold L, et al (2012) Activation of the *Arabidopsis thaliana* Mitogen-Activated Protein Kinase MPK11 by the Flagellin-Derived Elicitor Peptide, flg22. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-11-11-0281> 25:471–480. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-11-0281>
- Bhasin H, Bhatia D, Raghuvanshi S, et al (2011) New PCR-based sequence-tagged site marker for bacterial blight resistance gene Xa38 of rice. *Mol Breed* 2011 301 30:607–611. <https://doi.org/10.1007/S11032-011-9646-Y>
- Bi G, Zhou Z, Wang W, et al (2018) Receptor-Like Cytoplasmic Kinases Directly Link Diverse Pattern Recognition Receptors to the Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase Cascades in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 30:1543–1561. <https://doi.org/10.1105/TPC.17.00981>
- Biezen EA Van Der, Jones JDG (1998) Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. *Trends Biochem Sci* 23:454–456. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(98\)01311-5](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(98)01311-5)
- Bigeard J, Colcombet J, Hirt H (2015) Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). *Mol Plant* 8:521–539. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.022>
- Bimolata W, Kumar A, Sundaram RM, et al (2013) Analysis of nucleotide diversity among alleles of the major bacterial blight resistance gene Xa27 in cultivars of rice (*Oryza sativa*) and its wild relatives. *Planta* 238:293–305. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1891-3>
- Boch J, Bonas U, Lahaye T (2014) TAL effectors - pathogen strategies and plant resistance engineering. *New Phytol* 204:823–832. <https://doi.org/10.1111/nph.13015>
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512. <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bogdanove AJ, Voytas DF (2011) TAL effectors: Customizable proteins for DNA targeting. *Science* (80-) 333:1843–1846. <https://doi.org/10.1126/science.1204094>
- Bonas U (1994) *hrp* Genes of Phytopathogenic Bacteria. *Curr Top Microbiol Immunol* 192:79–96. https://doi.org/10.1007/978-3-642-78624-2_4
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Boutrot F, Zipfel C (2017) Function, Discovery, and Exploitation of Plant Pattern Recognition Receptors for Broad-Spectrum Disease Resistance. *Annu Rev Phytopathol* 55:257–286. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120106>
- Brar, Khush (1997) Wide hybridization for rice improvements : alien gene transfer and molecular characterization of introgression. *Interspecific Hybrid Prog Prospect WARDA* 21–29
- Brown I, Trethowan J, Kerry M, et al (1998) Localization of components of the oxidative cross-linking of glycoproteins and of callose synthesis in papillae formed during the interaction between non-pathogenic strains of *Xanthomonas campestris* and French bean mesophyll cells. *Plant J*

- Brown JKM (2015) Durable Resistance of Crops to Disease: A Darwinian Perspective. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045914> 53:513–539. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-102313-045914>
- Buddenhagen IW (1979) Bacterial blight found in Africa. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19801367355>. Accessed 14 Aug 2021
- Busungu C, Taura S, Sakagami J-II, Ichitani K (2016) Identification and linkage analysis of a new rice bacterial blight resistance gene from XM14, a mutant line from IR24. *Breed Sci* 66:636–645. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.16062>
- Busungu C, Taura S, Sakagami JI, et al (2018) High-resolution mapping and characterization of xa42, a resistance gene against multiple xanthomonas oryzae pv. Oryzae races in rice (oryza sativa l.). *Breed Sci* 68:188–199. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.17094>
- Büttner D, Bonas U (2002) Getting across—bacterial type III effector proteins on their way to the plant cell. *EMBO J* 21:5313–5322. <https://doi.org/10.1093/EMBOJ/CDF536>
- Byrum SD, Taverna SD, Tackett AJ (2013) Purification of a specific native genomic locus for proteomic analysis. *Nucleic Acids Res* 41:e195–e195. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT822>
- Calil IP, Fontes EPB (2017) Plant immunity against viruses: antiviral immune receptors in focus. *Ann Bot* 119:711–723. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCW200>
- Cascales E, Christie PJ (2003) The versatile bacterial type IV secretion systems. *Nat Rev Microbiol* 2003 12 1:137–149. <https://doi.org/10.1038/nrmicro753>
- Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- Cesari S, Bernoux M, Moncuquet P, et al (2014) A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: The “integrated decoy” hypothesis. *Front Plant Sci* 5:606. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00606>
- Césari S, Kanzaki H, Fujiwara T, et al (2014) The NB-LRR proteins RGA 4 and RGA 5 interact functionally and physically to confer disease resistance. *EMBO J* 33:1941–1959. <https://doi.org/10.15252/embj.201487923>
- Césari S, Thilliez G, Ribot C, et al (2013) The Rice Resistance Protein Pair RGA4/RGA5 Recognizes the Magnaporthe oryzae Effectors AVR-Pia and AVR1-CO39 by Direct Binding. *Plant Cell* 25:1463–1481. <https://doi.org/10.1105/TPC.112.107201>
- Chae E, Bomblies K, Kim ST, et al (2014) Species-wide Genetic Incompatibility Analysis Identifies Immune Genes as Hot Spots of Deleterious Epistasis. *Cell* 159:1341–1351. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.10.049>
- Chai HB, Doke N (1987) Activation of the potential of potato leaf tissue to react hypersensitively to *Phytophthora infestans* by cytosporic germination fluid and the enhancement of this potential by calcium ions. *Physiol Mol Plant Pathol* 30:27–37. [https://doi.org/10.1016/0885-5765\(87\)90080-4](https://doi.org/10.1016/0885-5765(87)90080-4)

- Cheema KK, Grewal NK, Vikal Y, et al (2008) A novel bacterial blight resistance gene from *Oryza nivara* mapped to 38 kb region on chromosome 4L and transferred to *Oryza sativa* L. *Genet Res (Camb)* 90:397–407. <https://doi.org/10.1017/S0016672308009786>
- Chen H, Xue L, Chintamanani S, et al (2009a) ETHYLENE INSENSITIVE3 and ETHYLENE INSENSITIVE3-LIKE1 Repress SALICYLIC ACID INDUCTION DEFICIENT2 Expression to Negatively Regulate Plant Innate Immunity in Arabidopsis. *Plant Cell* 21:2527–2540. <https://doi.org/10.1105/TPC.108.065193>
- Chen L-Q (2014) SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. *New Phytol* 201:1150–1155. <https://doi.org/10.1111/NPH.12445>
- Chen L-Q, Cheung LS, Feng L, et al (2015) Transport of Sugars. <http://dx.doi.org/101146/annurev-biochem-060614-033904> 84:865–894. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-BIOCHEM-060614-033904>
- Chen L-Q, Hou B-H, Lalonde S, et al (2010) Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nat* 2010 4687323 468:527–532. <https://doi.org/10.1038/nature09606>
- Chen S, Huang Z, Zeng L, et al (2008) High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae* resistance gene Xa7. *Mol Breed* 2008 223 22:433–441. <https://doi.org/10.1007/S11032-008-9187-1>
- Chen S, Liu X, Zeng L, et al (2011) Genetic analysis and molecular mapping of a novel recessive gene xa34(t) for resistance against *xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Theor Appl Genet* 122:1331–1338. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1534-7>
- Chen S, Wang C, Yang J, et al (2020) Identification of the novel bacterial blight resistance gene Xa46(t) by mapping and expression analysis of the rice mutant H120. *Sci Rep* 10:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69639-y>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chen X, Steed A, Travella S, et al (2009b) *Fusarium graminearum* exploits ethylene signalling to colonize dicotyledonous and monocotyledonous plants. *New Phytol* 182:975–983. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2009.02821.X>
- Chen X, Zuo S, Schwessinger B, et al (2014) An XA21-associated kinase (OsSERK2) regulates immunity mediated by the XA21 and XA3 immune receptors. *Mol Plant* 7:874–892. <https://doi.org/10.1093/MP/SSU003>
- Cheng H, Liu H, Deng Y, et al (2015) The WRKY45-2 WRKY13 WRKY42 transcriptional regulatory cascade is required for rice resistance to fungal pathogen. *Plant Physiol* 167:1087–1099. <https://doi.org/10.1104/PP.114.256016>
- Cheong H, Kim C-Y, Jeon J-S, et al (2013) *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Type III Effector XopN Targets OsVOZ2 and a Putative Thiamine Synthase as a Virulence Factor in Rice. *PLoS One* 8:e73346. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0073346>

- Chinchilla D, Zipfel C, Robatzek S, et al (2007) A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nat* 2007 448:497–500.
<https://doi.org/10.1038/nature05999>
- Chong J, Piron M-C, Meyer S, et al (2014) The SWEET family of sugar transporters in grapevine: VvSWEET4 is involved in the interaction with *Botrytis cinerea*. *J Exp Bot* 65:6589–6601.
<https://doi.org/10.1093/JXB/ERU375>
- Chou FL, Chou HC, Lin YS, et al (1997) The *Xanthomonas campestris* gumD Gene Required for Synthesis of Xanthan Gum Is Involved in Normal Pigmentation and Virulence in Causing Black Rot. *Biochem Biophys Res Commun* 233:265–269.
<https://doi.org/10.1006/BBRC.1997.6365>
- Christian M, Cermak T, Doyle EL, et al (2010) Targeting DNA Double-Strand Breaks with TAL Effector Nucleases. *Genetics* 186:757–761. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.110.120717>
- Chukwu SC, Rafii · M Y, Ramlee · S I, et al (2019) Bacterial leaf blight resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approach. *Mol Biol Rep* 46:1519–1532.
<https://doi.org/10.1007/s11033-019-04584-2>
- Chung EH, Da Cunha L, Wu AJ, et al (2011) Specific Threonine Phosphorylation of a Host Target by Two Unrelated Type III Effectors Activates a Host Innate Immune Receptor in Plants. *Cell Host Microbe* 9:125–136. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2011.01.009>
- Cianciotto NP, White RC (2017) Expanding role of type II secretion in bacterial pathogenesis and beyond. *Infect Immun* 85:. <https://doi.org/10.1128/IAI.00014-17>
- Cianfanelli FR, Monlezun L, Coulthurst SJ (2016) Aim, Load, Fire: The Type VI Secretion System, a Bacterial Nanoweapon. *Trends Microbiol* 24:51–62.
<https://doi.org/10.1016/J.TIM.2015.10.005>
- Civán P, Craig H, Cox CJ, Brown TA (2015) Three geographically separate domestications of Asian rice. *Nat Plants* 1:15164. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.164>
- Cohn M, Bart RS, Shybut M, et al (2014) *Xanthomonas axonopodis* Virulence Is Promoted by a Transcription Activator-Like Effector–Mediated Induction of a SWEET Sugar Transporter in Cassava. <http://dx.doi.org/101094/MPMI-06-14-0161-R> 27:1186–1198.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-06-14-0161-R>
- Cox KL, Meng F, Wilkins KE, et al (2017) TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. *Nat Commun* 8:15588.
<https://doi.org/10.1038/ncomms15588>
- Cruz RP da, Sperotto RA, Cargnelutti D, et al (2013) Avoiding damage and achieving cold tolerance in rice plants. *Food Energy Secur* 2:96–119. <https://doi.org/10.1002/FES3.25>
- Cunningham F, Amode MR, Barrell D, et al (2015) Ensembl 2015. *Nucleic Acids Res* 43:D662–D669. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1010>

- da Silva ACR, Ferro JA, Reinach FC, et al (2002) Comparison of the genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities. *Nat* 2002 4176887 417:459–463. <https://doi.org/10.1038/417459a>
- Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ (2013) Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* (80-) 341:746–751. <https://doi.org/10.1126/science.1236011>
- Dangl JL, Jones JDG (2001) Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411:826–833. <https://doi.org/10.1038/35081161>
- Dar AA, Mahajan R, Sharma S (2019) Molecular markers for characterization and conservation of plant genetic resources Characterisation of common bean germplasm View project. *Artic Indian J Agric Sci*
- Darsonval A, Darrasse A, Durand K, et al (2009) Adhesion and Fitness in the Bean Phyllosphere and Transmission to Seed of *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans*. <http://dx.doi.org/101094/MPMI-22-6-0747> 22:747–757. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-6-0747>
- Das A, Rangaraj N, Sonti R V. (2008) Multiple Adhesin-Like Functions of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Are Involved in Promoting Leaf Attachment, Entry, and Virulence on Rice. <http://dx.doi.org/101094/MPMI-22-1-0073> 22:73–85. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-1-0073>
- De La Concepcion JC, Franceschetti M, Maclean D, et al (2019) Protein engineering expands the effector recognition profile of a rice NLR immune receptor. *Elife* 8:. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.47713>
- De Lange O, Binder A, Lahaye T (2014) From dead leaf, to new life: TAL effectors as tools for synthetic biology. *Plant J* 78:753–771. <https://doi.org/10.1111/tpj.12431>
- De Vleeschauwer D, Xu J, Höfte M (2014) Making sense of hormone-mediated defense networking: from rice to *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 0:611. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00611>
- Deng D, Yan C, Pan X, et al (2012a) Structural Basis for Sequence-Specific Recognition of DNA by TAL Effectors. *Science* (80-) 335:720–723. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1215670>
- Deng H, Liu H, Li X, et al (2012b) A CCCH-type zinc finger nucleic acid-binding protein quantitatively confers resistance against rice bacterial blight disease. *Plant Physiol* 158:876–889. <https://doi.org/10.1104/PP.111.191379>
- Deng W, Marshall NC, Rowland JL, et al (2017) Assembly, structure, function and regulation of type III secretion systems. *Nat Rev Microbiol* 15:323–337. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.20>
- Denoux C, Galletti R, Mammarella N, et al (2008) Activation of defense response pathways by OGs and Flg22 elicitors in *Arabidopsis* seedlings. *Mol Plant* 1:423–445. <https://doi.org/10.1093/mp/ssn019>

- Dharmapuri S, Sonti R V. (1999) A transposon insertion in the gumG homologue of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causes loss of extracellular polysaccharide production and virulence. *FEMS Microbiol Lett* 179:53–59. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6968.1999.TB08707.X>
- Diallo MA, Zougrana MS, Sawadogo PM, et al (2021) First report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* in Ivory Coast. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0811-PDN>. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0811-PDN>
- Djedatin G, Ndjioudjop M-NN, Sanni A, et al (2016) Identification of novel major and minor QTLs associated with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (African strains) resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice* 9:1–10. <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0090-9>
- Dodds PN, Rathjen JP (2010) Plant immunity: Towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nat Rev Genet* 11:539–548. <https://doi.org/10.1038/nrg2812>
- Dong S, Stam R, Cano LM, et al (2014) Effector Specialization in a Lineage of the Irish Potato Famine Pathogen. *Science* (80-) 343:552–555. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1246300>
- Doucouré H, Pérez-Quintero AL, Reshetnyak G, et al (2018) Functional and genome sequence-driven characterization of tal effector gene repertoires reveals novel variants with altered specificities in closely related malian *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains. *Front Microbiol* 9:1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01657>
- Dow JM, Crossman L, Findlay K, et al (2003) Biofilm dispersal in *Xanthomonas campestris* is controlled by cell–cell signaling and is required for full virulence to plants. *Proc Natl Acad Sci* 100:10995–11000. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1833360100>
- Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT) 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122. <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>
- Drobnak I, Braselmann E, Chaney JL, et al (2015) Of linkers and autochaperones: an unambiguous nomenclature to identify common and uncommon themes for autotransporter secretion. *Mol Microbiol* 95:1–16. <https://doi.org/10.1111/MMI.12838>
- Droc G, Ruiz M, Larmande P, et al (2006) OryGenesDB: a database for rice reverse genetics. *Nucleic Acids Res* 34:D736–D740. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj012>
- Duan S, Jia H, Pang Z, et al (2018) Functional characterization of the citrus canker susceptibility gene CsLOB1. *Mol Plant Pathol* 19:1908–1916. <https://doi.org/10.1111/MPP.12667>
- Dunger G, Relling VM, Tondo ML, et al (2007) Xanthan is not essential for pathogenicity in citrus canker but contributes to *Xanthomonas* epiphytic survival. *Arch Microbiol* 2007 1882 188:127–135. <https://doi.org/10.1007/S00203-007-0227-8>
- Duxbury Z, Wu CH, Ding P (2021) A Comparative Overview of the Intracellular Guardians of Plants and Animals: NLRs in Innate Immunity and Beyond. *Annu Rev Plant Biol* 72:155–184. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-080620-104948>

- Edwards MD, Stuber CW, Wendel JF (1987) Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize. I. Numbers, genomic distribution and types of gene action. *Genetics* 116:113–125. <https://doi.org/10.1093/genetics/116.1.113>
- El Kasmi F, Horvath D, Lahaye T (2018) Microbial effectors and the role of water and sugar in the infection battle ground. *Curr Opin Plant Biol* 44:98–107. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2018.02.011>
- Ellis J, Jones D (1998) Structure and function of proteins controlling strain-specific pathogen resistance in plants. *Curr Opin Plant Biol* 1:288–293. [https://doi.org/10.1016/1369-5266\(88\)80048-7](https://doi.org/10.1016/1369-5266(88)80048-7)
- Eom J-S, Chen L-Q, Sosso D, et al (2015) SWEETs, transporters for intracellular and intercellular sugar translocation. *Curr Opin Plant Biol* 25:53–62. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.04.005>
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2019) PrediTALE: A novel model learned from quantitative data allows for new perspectives on TALE targeting. *Public Library of Science*
- Erkes A, Reschke M, Boch J, Grau J (2017) Evolution of transcription activator-like effectors in *Xanthomonas oryzae*. *Genome Biol Evol* 9:1599–1699. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx108>
- Escalon A, Javegny S, Vernière C, 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. <https://doi.org/10.1111/MPP.12019>
- Eshed Y, Zamir D (1995) An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL. *Genetics* 141:1147–1162. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/141.3.1147>
- Fang C -t., Ken H -c., Chen T -y., et al (1957) A comparison of the Rice bacterial leaf blight organism with the bacterial leaf streak organisms of Rice and *Leersia hexandra* Swartz. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19581101830>. Accessed 14 Aug 2021
- Feng CY, Han JX, Han XX, Jiang J (2015) Genome-wide identification, phylogeny, and expression analysis of the SWEET gene family in tomato. *Gene* 573:261–272. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2015.07.055>
- Feng F, Yang F, Rong W, et al (2012) A *Xanthomonas* uridine 5'-monophosphate transferase inhibits plant immune kinases. *Nat* 2012 4857396 485:114–118. <https://doi.org/10.1038/nature10962>
- Ferreira RM, de Oliveira ACP, Moreira LM, et al (2015) A TALE of Transposition: Tn3-like transposons play a major role in the spread of pathogenicity determinants of *xanthomonas citri* and other *xanthomonads*. *MBio* 6:. <https://doi.org/10.1128/MBIO.02505-14>
- Fine EJ, Cradick TJ, Zhao CL, et al (2014) An online bioinformatics tool predicts zinc finger and TALE nuclease off-target cleavage. *Nucleic Acids Res* 42:e42–e42. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1326>
- Flor HH (1971) Current status of the gene-fob-gene concept. 275–296

- Foley JA, Ramankutty N, Brauman KA, et al (2011) Solutions for a cultivated planet. *Nat* 2011 478:337–342. <https://doi.org/10.1038/nature10452>
- Fu J, Liu H, Li Y, et al (2011) Manipulating Broad-Spectrum Disease Resistance by Suppressing Pathogen-Induced Auxin Accumulation in Rice. *Plant Physiol* 155:589–602. <https://doi.org/10.1104/PP.110.163774>
- Fu ZQ, Dong X (2013) Systemic Acquired Resistance: Turning Local Infection into Global Defense. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105606> 64:839–863. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ARPLANT-042811-105606>
- Fujita T, Asano Y, Ohtsuka J, et al (2013) Identification of telomere-associated molecules by engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation (enChIP). *Sci Reports* 2013 31 3:1–7. <https://doi.org/10.1038/srep03171>
- Fuller DQ (2007) Contrasting Patterns in Crop Domestication and Domestication Rates: Recent Archaeobotanical Insights from the Old World. *Ann Bot* 100:903–924. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCM048>
- Gaffney T, Friedrich L, Vernooij B, et al (1993) Requirement of Salicylic Acid for the Induction of Systemic Acquired Resistance. *Science* (80-) 261:754–756. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.261.5122.754>
- Gaige AR, Ayella A, Shuai B (2010) Methyl jasmonate and ethylene induce partial resistance in *Medicago truncatula* against the charcoal rot pathogen *Macrophomina phaseolina*. *Physiol Mol Plant Pathol* 74:412–418. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2010.07.001>
- Gao Q, Kachroo A, Kachroo P (2014) Chemical inducers of systemic immunity in plants. *J Exp Bot* 65:1849–1855. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU010>
- Garavito A, Guyot R, Lozano J, et al (2010) A Genetic Model for the Female Sterility Barrier Between Asian and African Cultivated Rice Species. *Genetics* 185:1425–1440. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.110.116772>
- Garg AK, Kim J-K, Owens TG, et al (2002) Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proc Natl Acad Sci* 99:15898–15903. <https://doi.org/10.1073/PNAS.252637799>
- Garita-Cambronero J, Palacio-Bielsa A, López MM, Cubero J (2017) Pan-Genomic Analysis Permits Differentiation of Virulent and Non-virulent Strains of *Xanthomonas arboricola* That Cohabit *Prunus* spp. and Elucidate Bacterial Virulence Factors. *Front Microbiol* 0:573. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.00573>
- Garris AJ, Tai TH, Coburn J, et al (2005) Genetic Structure and Diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* 169:1631–1638. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.035642>
- Gerlach RG, Hensel M (2007) Protein secretion systems and adhesins: The molecular armory of Gram-negative pathogens. *Int J Med Microbiol* 297:401–415. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.03.017>

- Glazebrook J (2005) Contrasting Mechanisms of Defense Against Biotrophic and Necrotrophic Pathogens. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto43040204135923> 43:205–227.
<https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.43.040204.135923>
- Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, et al (2010) Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science* (80-) 327:812–818. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1185383>
- Goff SA, Ricke D, Lan T-H, et al (2002) A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science* (80-) 296:92–100. <https://doi.org/10.1126/science.1068275>
- Gómez-Gómez L, 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.
[https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(00\)80265-8](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)80265-8)
- Gómez-Gómez L, Felix G, Boller T (1999) A single locus determines sensitivity to bacterial flagellin in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 18:277–284. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.00451.x>
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gonzalez CF (1991) *Leersia hexandra*, an Alternative Host for *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in Texas . *Plant Dis* 75:159. <https://doi.org/10.1094/PD-75-0159>
- González VM, Müller S, Baulcombe D, Puigdomènech P (2015) Evolution of NBS-LRR Gene Copies among Dicot Plants and its Regulation by Members of the miR482/2118 Superfamily of miRNAs. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.013>
- Goodner B, Hinkle G, Gattung S, et al (2001) Genome Sequence of the Plant Pathogen and Biotechnology Agent *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* (80-) 294:2323–2328. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1066803>
- Gordon JL, Lefeuvre P, Escalon A, et al (2015) Comparative genomics of 43 strains of *Xanthomonas citri* pv. *citri* reveals the evolutionary events giving rise to pathotypes with different host ranges. *BMC Genomics* 2015 16:1–20. <https://doi.org/10.1186/S12864-015-2310-X>
- Goto F, Yoshihara T, Shigemoto N, et al (1999) Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene. *Nat Biotechnol* 17:282–286. <https://doi.org/10.1038/7029>
- Goto M (1992) *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. 365
- Goto T, MATSUMOTO T, FURUYA N, et al (2009) Mapping of Bacterial Blight Resistance Gene Xa11 on Rice Chromosome 3. *Japan Agric Res Q JARQ* 43:221–225.
<https://doi.org/10.6090/JARQ.43.221>
- Gottig N, Garavaglia BS, Garofalo CG, et al (2009) A Filamentous Hemagglutinin-Like Protein of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, the Phytopathogen Responsible for Citrus Canker, Is Involved in Bacterial Virulence. *PLoS One* 4:e4358.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0004358>

- Grant M, Brown I, Adams S, et al (2000) The RPM1 plant disease resistance gene facilitates a rapid and sustained increase in cytosolic calcium that is necessary for the oxidative burst and hypersensitive cell death. *Plant J* 23:441–450. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2000.00804.x>
- Grant M, Lamb C (2006) Systemic immunity. *Curr Opin Plant Biol* 9:414–420. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2006.05.013>
- Grau J, Boch J, Posch S (2013a) TALENoffer: genome-wide TALEN off-target prediction. *Bioinformatics* 29:2931–2932. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTT501>
- Grau J, Keilwagen J, Posch S, Grosse I (2012) Jstacs: A Java Framework for Statistical Analysis and Classification of Biological Sequences André Gohr Berit Haldemann. *J Mach Learn Res* 13:1967–1971
- Grau J, Wolf A, Reschke M, et al (2013b) Computational Predictions Provide Insights into the Biology of TAL Effector Target Sites. *PLOS Comput Biol* 9:e1002962. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1002962>
- Greenberg JT, Yao N (2004) The role of regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cell Microbiol* 6:201–211. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2004.00361.x>
- Grellet-Bournonville CF, Martinez-Zamora MG, Castagnaro AP, Díaz-Ricci JC (2012) Temporal accumulation of salicylic acid activates the defense response against *Colletotrichum* in strawberry. *Plant Physiol Biochem* 54:10–16. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2012.01.019>
- Griebel T, Maekawa T, Parker JE (2014) NOD-like receptor cooperativity in effector-triggered immunity. *Trends Immunol* 35:562–570. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2014.09.005>
- Gross BL, Zhao Z (2014) Archaeological and genetic insights into the origins of domesticated rice. *Proc Natl Acad Sci* 111:6190–6197. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1308942110>
- Gu K, Sangha JS, Li Y, Yin Z (2008) High-resolution genetic mapping of bacterial blight resistance gene Xa10. *Theor Appl Genet* 116:155–163. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0655-5>
- Gu K, Tian D, Qiu C, Yin Z (2009) Transcription activator-like type III effector avrxa27 depends on ostfiiay5 for the activation of Xa27 transcription in rice that triggers disease resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*: Short communication. *Mol Plant Pathol* 10:829–835. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00567.x>
- Gu K, Tian D, Yang F, et al (2004) High-resolution genetic mapping of Xa27(t), a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 108:800–807. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1491-x>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Guo S, Zhang D, Lin X (2010) Identification and Mapping of a Novel Bacterial Blight Resistance. *Sci Agric Sin* 43:2611–2618

- Gururani MA, Venkatesh J, Upadhyaya CP, et al (2012) Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiol Mol Plant Pathol* 78:51–65. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2012.01.002>
- Gutterson N, Reuber TL (2004) Regulation of disease resistance pathways by AP2/ERF transcription factors. *Curr Opin Plant Biol* 7:465–471. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.04.007>
- H. Gridley MJ and MW-P (2002) Development of new rice for Africa (NERICA) and participatory varietal selection. In: *Breeding rainfed rice for drought -prone environment: interacting conventional and participatory plant breeding in South and Southeast Asia. Proceedings of a DFID plant sciences research programme/IRRI conference.* pp 23–28
- Hachani A, Wood TE, Filloux A (2016) Type VI secretion and anti-host effectors. *Curr Opin Microbiol* 29:81–93. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2015.11.006>
- Halim VA, Eschen-Lippold L, Altmann S, et al (2007) Salicylic acid is important for basal defense of *Solanum tuberosum* Against *Phytophthora infestans*. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:1346–1352. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-11-1346>
- Hamann T (2012) Plant cell wall integrity maintenance as an essential component of biotic stress response mechanisms. *Front Plant Sci* 0:77. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2012.00077>
- Han J, Xia Z, Liu P, et al (2020) TALEN-based editing of TFIIA5 changes rice response to *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *Sci Reports* 2020 10:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59052-w>
- Hann DR, Rathjen JP (2007) Early events in the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* on *Nicotiana benthamiana*. *Plant J* 49:607–618. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02981.x>
- Hayafune M, Berisio R, Marchetti R, et al (2014) Chitin-induced activation of immune signaling by the rice receptor CEBiP relies on a unique sandwich-type dimerization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E404–E413. <https://doi.org/10.1073/pnas.1312099111>
- He Q, Li D, Zhu Y, et al (2006) Fine Mapping of Xa2, a Bacterial Blight Resistance Gene in Rice. *Mol Breed* 2006 17:1–6. <https://doi.org/10.1007/S11032-005-8698-2>
- Hébrard E, Froissart R, Louis C, Blanc S (1999) Les modes de transmission des virus phytopathogènes par vecteurs. *Virologie* 3:35–48
- Heigwer F, Kerr G, Walther N, et al (2013) E-TALEN: a web tool to design TALENs for genome engineering. *Nucleic Acids Res* 41:e190–e190. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT789>
- Helliwell EE, Wang Q, Yang Y (2013) Transgenic rice with inducible ethylene production exhibits broad-spectrum disease resistance to the fungal pathogens *Magnaporthe oryzae* and *Rhizoctonia solani*. *Plant Biotechnol J* 11:33–42. <https://doi.org/10.1111/PBI.12004>
- Hirabayashi H, Sasaki K, Kambe T, et al (2015) qEMF3, a novel QTL for the early-morning flowering trait from wild rice, *Oryza officinalis*, to mitigate heat stress damage at flowering in rice, *O. sativa*. *J Exp Bot* 66:1227–1236. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU474>

- Hoffman T, Schmidt JS, Zheng X, Bent AF (1999) Isolation of Ethylene-Insensitive Soybean Mutants That Are Altered in Pathogen Susceptibility and Gene-for-Gene Disease Resistance. *Plant Physiol* 119:935–950. <https://doi.org/10.1104/PP.119.3.935>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Howe GA, Jander G (2008) Plant Immunity to Insect Herbivores. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant59032607092825> 59:41–66. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.ARPLANT.59.032607.092825>
- Hsu PD, Scott DA, Weinstein JA, et al (2013) DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. *Nat Biotechnol* 2013 319 31:827–832. <https://doi.org/10.1038/nbt.2647>
- Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>
- Hu M, Qi J, Bi G, Zhou JM (2020) Bacterial Effectors Induce Oligomerization of Immune Receptor ZAR1 In Vivo. *Mol Plant* 13:793–801. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2020.03.004>
- Hu Y, Duan S, Zhang Y, et al (2016) Temporal Transcription Profiling of Sweet Orange in Response to PthA4-Mediated *Xanthomonas citri* subsp. *citri* Infection. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0201-R> 106:442–451. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0201-R>
- Hu Y, Zhang J, Jia H, et al (2014) Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E521–E529. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313271111>
- Huang L, Brooks S, Li W, et al (2009) Evolution of New Disease Specificity at a Simple Resistance Locus in a Crop–Weed Complex: Reconstitution of the Lr21 Gene in Wheat. *Genetics* 182:595–602. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.099614>
- Huang N, Angeles ER, Domingo J, et al (1997) Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker-assisted selection using RFLP and PCR. *Theor Appl Genet* 1997 953 95:313–320. <https://doi.org/10.1007/S001220050565>
- Huang R, Hui S, Zhang M, et al (2017) A Conserved Basal Transcription Factor Is Required for the Function of Diverse TAL Effectors in Multiple Plant Hosts. *Front Plant Sci* 0:1919. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2017.01919>
- Huang X, Kurata N, Wei X, et al (2012) A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature* 490:497–501. <https://doi.org/10.1038/nature11532>
- Huerta AI, Delorean EE, Bossa-Castro AM, et al (2021) Resistance and susceptibility QTL identified in a rice MAGIC population by screening with a minor-effect virulence factor from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Biotechnol J* 19:51–63. <https://doi.org/10.1111/pbi.13438>

- Huffaker A, Pearce G, Ryan CA (2006) An endogenous peptide signal in Arabidopsis activates components of the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10098–10103. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603727103>
- Hui S, Liu H, Zhang M, 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. <https://doi.org/10.1016/J.PLANTSCI.2019.04.004>
- Hui S, Shi Y, Tian J, et al (2019b) TALE carrying bacterial pathogens trap host nuclear import receptors for facilitation of infection of rice. *Mol Plant Pathol* 20:519–532. <https://doi.org/10.1111/mpp.12772>
- Hung CH, Wu HC, Tseng YH (2002) Mutation in the *Xanthomonas campestris* xanA Gene Required for Synthesis of Xanthan and Lipopolysaccharide Drastically Reduces the Efficiency of Bacteriophage ϕ L7 Adsorption. *Biochem Biophys Res Commun* 291:338–343. <https://doi.org/10.1006/BBRC.2002.6440>
- Hutin M, Pérez-Quintero AL, Lopez C, Szurek B (2015a) MorTAL KomBAT: the story of defense against TAL effectors through loss-of-susceptibility. *Front Plant Sci* 6:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00535>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015b) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Ichimura K, Shinozaki K, Tena G, et al (2002) Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci* 7:301–308. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02302-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02302-6)
- Iriti M, Faoro F (2009) Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. *Plant Signal Behav* 4:66–68. <https://doi.org/10.4161/psb.4.1.7408>
- Iriti M, Varoni EM (2014) Chitosan-induced antiviral activity and innate immunity in plants. *Environ Sci Pollut Res* 2014 224 22:2935–2944. <https://doi.org/10.1007/S11356-014-3571-7>
- Ishikawa K, Yamaguchi K, Sakamoto K, et al (2014) Bacterial effector modulation of host E3 ligase activity suppresses PAMP-triggered immunity in rice. *Nat Commun* 2014 51 5:1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms6430>
- Ishiyama, S. 1922. Studies of bacterial leaf blight of rice. *Rep. Imp. Agric. Stn. Konosu* 45233-261
- Iyer AS, McCouch SR (2007) The Rice Bacterial Blight Resistance Gene xa5 Encodes a Novel Form of Disease Resistance. <http://dx.doi.org/101094/MPMI200417121348> 17:1348–1354. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.12.1348>
- Jackson MT (1995) Protecting the heritage of rice biodiversity. *GeoJournal* 35:267–274. <https://doi.org/10.1007/BF00989134>
- Jacob F, Vernaldi S, Maekawa T (2013) Evolution and Conservation of Plant NLR Functions. *Front Immunol* 0:297. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2013.00297>

- Jacobs JM, Pesce C, Lefeuvre P, Koebnik R (2015) Comparative genomics of a cannabis pathogen reveals insight into the evolution of pathogenicity in *Xanthomonas*. *Front Plant Sci* 0:431. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00431>
- Jacquemin J, Bhatia D, Singh K, Wing RA (2013) The International Oryza Map Alignment Project: development of a genus-wide comparative genomics platform to help solve the 9 billion-people question. *Curr Opin Plant Biol* 16:147–156. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.014>
- Jacques M-A, Arlat M, Boulanger A, et al (2016) Using Ecology, Physiology, and Genomics to Understand Host Specificity in *Xanthomonas*. *Annu Rev Phytopathol* 54:163–187. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100147>
- Jaiswal P, Ni J, Yap I, et al (2006) Gramene: a bird's eye view of cereal genomes. *Nucleic Acids Res* 34:D717–D723. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj154>
- Jansen RC, Stam P (1994) High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136:1447–1455. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/136.4.1447>
- Jehle AK, Lipschis M, Albert M, et al (2013) The Receptor-Like Protein ReMAX of *Arabidopsis* Detects the Microbe-Associated Molecular Pattern eMax from *Xanthomonas*. *Plant Cell* 25:2330–2340. <https://doi.org/10.1105/TPC.113.110833>
- Jena KK, Kim SM, Suh JP, et al (2012) Identification of Cold-Tolerant Breeding Lines by Quantitative Trait Loci Associated with Cold Tolerance in Rice. *Crop Sci* 52:517–523. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI2010.12.0733>
- Jeworutzki E, Roelfsema MRG, Anshütz U, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2010.04155.X>
- Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Jia Y, McAdams SA, Bryan GT, et al (2000) Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. *EMBO J* 19:4004–4014. <https://doi.org/10.1093/EMBOJ/19.15.4004>
- Jiang GH, Xia ZH, Zhou YL, et al (2006) Testifying the rice bacterial blight resistance gene xa5 by genetic complementation and further analyzing xa5 (Xa5) in comparison with its homolog TFIIA γ 1. *Mol Genet Genomics* 275:354–366. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0091-7>
- Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al (2012) A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science* (80-) 337:816–821. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1225829>

- Jisha V, Dampanaboina L, Vadassery J, et al (2015) Overexpression of an AP2/ERF Type Transcription Factor OsERE1BP1 Confers Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Rice. *PLoS One* 10:e0127831. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127831>
- Johnson WC, Menéndez C, Nodari R, et al (1996) Association of a seed weight factor with the phaseolin seed storage protein locus across genotypes, environments, and genomes in *Phaseolus-Vigna* spp.: Sax (1923) revisited. *J Agric Genomics* 2:1–19
- Jones DA, Thomas CM, Hammond-Kosack KE, et al (1994) Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science* (80-) 266:789–793. <https://doi.org/10.1126/science.7973631>
- Jones JDG, Dangl JL (2006) The plant immune system. *Nature* 444:323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Jones MP, Jeutong F, Tchatchoua J (1991) Diseases of rice in Cameroon. *Int Rice Res Newsl* 16:19–20
- Jones RK (1989) Identification of Low-Virulence Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* from Rice in the United States . *Phytopathology* 79:984. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-79-984>
- Joosten MHAI, De Wit PJGM (1999) The tomato-*Cladosporium fulvum* interaction: A versatile experimental system to study plant-pathogen interactions. *Annu Rev Phytopathol* 37:335–367. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.37.1.335>
- Jung KH, An G, Ronald PC (2008) Towards a better bowl of rice: Assigning function to tens of thousands of rice genes. *Nat Rev Genet* 9:91–101. <https://doi.org/10.1038/nrg2286>
- Kachroo A, Robin GP (2013) Systemic signaling during plant defense. *Curr Opin Plant Biol* 16:527–533. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2013.06.019>
- Kadota Y, Liebrand TWH, Goto Y, et al (2019) Quantitative phosphoproteomic analysis reveals common regulatory mechanisms between effector- and PAMP-triggered immunity in plants. *New Phytol* 221:2160–2175. <https://doi.org/10.1111/NPH.15523>
- Kadota Y, Sklenar J, Derbyshire P, et al (2014) Direct Regulation of the NADPH Oxidase RBOHD by the PRR-Associated Kinase BIK1 during Plant Immunity. *Mol Cell* 54:43–55. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2014.02.021>
- Kao CH, Zeng ZB, Teasdale RD (1999) Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics* 152:1203–1216. <https://doi.org/10.1093/genetics/152.3.1203>
- Katzen F, Ferreira DU, Oddo CG, et al (1998) *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* gum mutants: Effects on xanthan biosynthesis and plant virulence. *J Bacteriol* 180:1607–1617. <https://doi.org/10.1128/JB.180.7.1607-1617.1998>
- Kawahara Y, de la Bastide M, Hamilton JP, et al (2013) Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. *Rice* 6:4. <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-4>

- Kay S, Hahn S, Marois E, et al (2007) A Bacterial Effector Acts as a Plant Transcription Factor and Induces a Cell Size Regulator. *Science* (80-) 318:648–651. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1144956>
- Kemp BP, Horne J, Bryant A, Cooper RM (2004) *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* gumD gene is essential for EPS production and pathogenicity and enhances epiphytic survival on cassava (*Manihot esculenta*). *Physiol Mol Plant Pathol* 64:209–218. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2004.08.007>
- Kersey PJ, Allen JE, Armean I, et al (2016) Ensembl Genomes 2016: More genomes, more complexity. *Nucleic Acids Res* 44:D574–D580. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1209>
- Kim DS, Hwang BK (2014) An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (PAL1) in salicylic acid-dependent signalling of the defence response to microbial pathogens. *J Exp Bot* 65:2295–2306. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU109>
- Kim J-G, Li X, Roden JA, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.063123>
- Kim JG, Stork W, Mudgett MB (2013) *Xanthomonas* type III effector XopD desumoylates tomato transcription factor SlERF4 to suppress ethylene responses and promote pathogen growth. *Cell Host Microbe* 13:143–154. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.01.006>
- Kim JG, Taylor KW, Hotson A, et al (2008) XopD SUMO protease affects host transcription, promotes pathogen growth, and delays symptom development in *Xanthomonas*-infected tomato leaves. *Plant Cell* 20:1915–1929. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.058529>
- Kim S, Park J, Yeom S-I, et al (2017) New reference genome sequences of hot pepper reveal the massive evolution of plant disease-resistance genes by retroduplication. *Genome Biol* 2017 18:1–11. <https://doi.org/10.1186/S13059-017-1341-9>
- Kimura S, Hunter K, Vaahera L, et al (2020) CRK2 and C-terminal Phosphorylation of NADPH Oxidase RBOHD Regulate Reactive Oxygen Species Production in Arabidopsis. *Plant Cell* 32:1063–1080. <https://doi.org/10.1105/TPC.19.00525>
- Kim S-M, Suh J-P, Qin Y, et al (2015) Identification and fine-mapping of a new resistance gene, Xa40, conferring resistance to bacterial blight races in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 2015 128:1933–1943. <https://doi.org/10.1007/S00122-015-2557-2>
- Kim SM (2018) Identification of novel recessive gene xa44(t) conferring resistance to bacterial blight races in rice by QTL linkage analysis using an SNP chip. *Theor Appl Genet* 131:2733–2743. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3187-2>
- Kim SM, Reinke RF (2019) A novel resistance gene for bacterial blight in rice, Xa43(t) identified by GWAS, confirmed by QTL mapping using a bi-parental population. *PLoS One* 14:1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211775>
- Klauser T, Pohlner J, Meyer TF (1993) The secretion pathway of IgA protease-type proteins in gram-negative bacteria. *BioEssays* 15:799–805. <https://doi.org/10.1002/BIES.950151205>

- Koch B, Callaghan MM, Tellechea-Luzardo J, et al (2020) Protein interactions within and between two F-type type IV secretion systems. *Mol Microbiol* 114:823–838. <https://doi.org/10.1111/MMI.14582>
- Kong J, Wei M, Li G, et al (2018) The cucumber mosaic virus movement protein suppresses PAMP-triggered immune responses in *Arabidopsis* and tobacco. *Biochem Biophys Res Commun* 498:395–401. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2018.01.072>
- Kørner CJ, Klauser D, Niehl A, et al (2013) The Immunity Regulator BAK1 Contributes to Resistance Against Diverse RNA Viruses. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-06-13-0179-R> 26:1271–1280. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-13-0179-R>
- Krannich CT, Maletzki L, Kurowsky C, Horn R (2015) Network Candidate Genes in Breeding for Drought Tolerant Crops. *Int J Mol Sci* 2015, Vol 16, Pages 16378-16400 16:16378–16400. <https://doi.org/10.3390/IJMS160716378>
- Krasileva K V., Dahlbeck D, Staskawicz BJ (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. <https://doi.org/10.1105/TPC.110.075358>
- Krattinger SG, Keller B (2016) Molecular genetics and evolution of disease resistance in cereals. *New Phytol* 212:320–332. <https://doi.org/10.1111/NPH.14097>
- Krol E, Mentzel T, Chinchilla D, et al (2010) Perception of the *Arabidopsis* danger signal peptide 1 involves the pattern recognition receptor AtPEPR1 and its close homologue AtPEPR2. *J Biol Chem* 285:13471–13479. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.097394>
- Kumar R, Soni M, Mondal KK (2016) XopN-T3SS effector of *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* localizes to the plasma membrane and modulates ROS accumulation events during blight pathogenesis in pomegranate. *Microbiol Res* 193:111–120. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.10.001>
- Kunze G, Zipfel C, Robatzek S, et al (2004) The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in *Arabidopsis* plants. *Plant Cell* 16:3496–3507. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.026765>
- Kurata N, Yamazaki Y (2006) Oryzabase. An integrated biological and genome information database for rice. *Plant Physiol* 140:12–17. <https://doi.org/10.1104/pp.105.063008>
- Laflamme B, Dillon MM, Martel A, et al (2020) The pan-genome effector-triggered immunity landscape of a host-pathogen interaction. *Science* (80-) 367:763–768. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAX4079>
- Lambert K, Bekal S (2002) Introduction to Plant-Parasitic Nematodes. *Plant Heal Instr.* <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2002-1218-01>
- Lander ES, Botstein S (1989) Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121:185. <https://doi.org/10.1093/genetics/121.1.185>

- Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>
- Le Roux C, Huet G, Jauneau A, et al (2015) A Receptor Pair with an Integrated Decoy Converts Pathogen Disabling of Transcription Factors to Immunity. *Cell* 161:1074–1088. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.04.025>
- Lebar T, Jerala R (2016) Benchmarking of TALE- and CRISPR/dCas9-Based Transcriptional Regulators in Mammalian Cells for the Construction of Synthetic Genetic Circuits. *ACS Synth Biol* 5:1050–1058. <https://doi.org/10.1021/ACSSYNBIO.5B00259>
- Lee D, Lal NK, Lin Z-JD, et al (2020) Regulation of reactive oxygen species during plant immunity through phosphorylation and ubiquitination of RBOHD. *Nat Commun* 2020 11:1–16. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15601-5>
- Lee HA, Lee HY, Seo E, et al (2017) Current understandings of plant nonhost resistance. *Mol Plant-Microbe Interact* 30:5–15. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-16-0213-CR>
- Lee KS, Rasabandith S, Angeles ER, Khush GS (2003) Inheritance of resistance to bacterial blight in 21 cultivars of rice. *Phytopathology* 93:147–152. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.2.147>
- Lee SW, Choi SH, Han SS, et al (2007) Distribution of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Strains Virulent to Xa21 in Korea. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO19998910928> 89:928–933. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.10.928>
- Leister D (2004) Tandem and segmental gene duplication and recombination in the evolution of plant disease resistance genes. *Trends Genet* 20:116–122. <https://doi.org/10.1016/J.TIG.2004.01.007>
- Levine A, Tenhaken R, Dixon R, Lamb C (1994) H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79:583–593. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90544-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90544-4)
- Lewis DH (1973) CONCEPTS IN FUNGAL NUTRITION AND THE ORIGIN OF BIOTROPHY. *Biol Rev* 48:261–277. <https://doi.org/10.1111/J.1469-185X.1973.TB00982.X>
- Lewis JD, Lee AH-Y, Hassan JA, 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* 110:18722–18727. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1315520110>
- Li F, Pignatta D, Bendix C, et al (2012) MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:1790–1795. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118282109>
- Li L, Li M, Yu L, et al (2014) The FLS2-Associated Kinase BIK1 Directly Phosphorylates the NADPH Oxidase RbohD to Control Plant Immunity. *Cell Host Microbe* 15:329–338. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2014.02.009>
- Li X, Si W, Qin Q, et al (2018) Deciphering evolutionary dynamics of SWEET genes in diverse plant lineages. *Sci Reports* 2018 8:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31589-x>

- Li YG, Hu B, Christie PJ (2019) Biological and Structural Diversity of Type IV Secretion Systems. *Microbiol Spectr* 7:. <https://doi.org/10.1128/MICROBIOLSPEC.PSIB-0012-2018>
- Liebrand TWH, van den Burg HA, Joosten MHAJ (2014) Two for all: Receptor-associated kinases SOBIR1 and BAK1. *Trends Plant Sci.* 19:123–132
- Lin Y, Fine EJ, Zheng Z, et al (2014) SAPTA: a new design tool for improving TALE nuclease activity. *Nucleic Acids Res* 42:e47–e47. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1363>
- Linares OF (2002) African rice (*Oryza glaberrima*): History and future potential. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:16360–16365. <https://doi.org/10.1073/pnas.252604599>
- Lindgren PB, Peet RC, Panopoulos NJ (1986) Gene cluster of *Pseudomonas syringae* pv. “phaseolicola” controls pathogenicity of bean plants and hypersensitivity on nonhost plants. *J Bacteriol* 168:512–522. <https://doi.org/10.1128/JB.168.2.512-522.1986>
- Liu B, Li JF, Ao Y, et al (2012a) Lysin motif-containing proteins LYP4 and LYP6 play dual roles in peptidoglycan and chitin perception in rice innate immunity. *Plant Cell* 24:3406–3419. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.102475>
- Liu C, Wu Y, Wang X (2012b) BZIP transcription factor OsbZIP52/RISBZ5: A potential negative regulator of cold and drought stress response in rice. *Planta* 235:1157–1169. <https://doi.org/10.1007/S00425-011-1564-Z/FIGURES/6>
- Liu J-Z, Horstman HD, Braun E, et al (2011a) Soybean Homologs of MPK4 Negatively Regulate Defense Responses and Positively Regulate Growth and Development. *Plant Physiol* 157:1363–1378. <https://doi.org/10.1104/PP.111.185686>
- Liu J, Elmore JM, Lin ZJD, Coaker G (2011b) A Receptor-like Cytoplasmic Kinase Phosphorylates the Host Target RIN4, Leading to the Activation of a Plant Innate Immune Receptor. *Cell Host Microbe* 9:137–146. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2011.01.010>
- Liu J, Zhang T, Jia J, Sun J (2016) The Wheat Mediator Subunit TaMED25 Interacts with the Transcription Factor TaEIL1 to Negatively Regulate Disease Resistance against Powdery Mildew. *Plant Physiol* 170:1799–1816. <https://doi.org/10.1104/PP.15.01784>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011c) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Liu W, Wang G-L (2016) Plant innate immunity in rice: a defense against pathogen infection. *Natl Sci Rev* 3:295–308. <https://doi.org/10.1093/NSR/NWW015>
- Liu Y, Zhang S (2004) Phosphorylation of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Synthase by MPK6, a Stress-Responsive Mitogen-Activated Protein Kinase, Induces Ethylene Biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 16:3386–3399. <https://doi.org/10.1105/TPC.104.026609>

- Long J, Song C, Yan F, et al (2018) Non-TAL effectors from *xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* suppress peptidoglycan-triggered MAPK activation in rice. *Front Plant Sci* 871:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01857>
- Lu H, Patil P, Sluys M-A Van, et al (2008) Acquisition and Evolution of Plant Pathogenesis–Associated Gene Clusters and Candidate Determinants of Tissue-Specificity in *Xanthomonas*. *PLoS One* 3:e3828. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0003828>
- Lu X, Kracher B, Saur IML, et al (2016) Allelic barley MLA immune receptors recognize sequence-unrelated avirulence effectors of the powdery mildew pathogen. *Proc Natl Acad Sci* 113:E6486–E6495. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1612947113>
- Lund ST, Stall RE, Klee HJ (1998) Ethylene Regulates the Susceptible Response to Pathogen Infection in Tomato. *Plant Cell* 10:371–382. <https://doi.org/10.1105/TPC.10.3.371>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- M’Barek S Ben, Karisto P, Fakhfakh M, et al (2019) Improved control of *Septoria tritici* blotch in durum wheat using cultivar mixtures. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/664078>
- Ma S, Lapin D, Liu L, et al (2020) Direct pathogen-induced assembly of an NLR immune receptor complex to form a holoenzyme. *Science* (80-) 370:. <https://doi.org/10.1126/science.abe3069>
- Ma Y, Guo H, Hu L, et al (2018) Distinct modes of derepression of an *Arabidopsis* immune receptor complex by two different bacterial effectors. *Proc Natl Acad Sci* 115:10218–10227. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1811858115>
- Mackey D, Belkhadir Y, Alonso JM, et al (2003) *Arabidopsis* RIN4 Is a Target of the Type III Virulence Effector AvrRpt2 and Modulates RPS2-Mediated Resistance. *Cell* 112:379–389. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00040-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00040-0)
- Mackill DJ, Salam MA, Wang Y, Tanksley SD (1993) A major photoperiod-sensitivity gene tagged with RFLP and isozyme markers in rice. *Theor Appl Genet* 85:536–540
- Mago R, Zhang P, Vautrin S, et al (2015) The wheat Sr50 gene reveals rich diversity at a cereal disease resistance locus. *Nat Plants* 2015 112 1:1–3. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.186>
- Majer C, Hochholdinger F (2011) Defining the boundaries: structure and function of LOB domain proteins. *Trends Plant Sci* 16:47–52. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2010.09.009>
- Mak AN-S, Bradley P, Cernadas RA, et al (2012) The Crystal Structure of TAL Effector PthXo1 Bound to Its DNA Target. *Science* (80-) 335:716–719. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1216211>
- Manck-Götzenberger J, Requena N (2016) Arbuscular mycorrhiza Symbiosis Induces a Major Transcriptional Reprogramming of the Potato SWEET Sugar Transporter Family. *Front Plant Sci* 0:487. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2016.00487>

- Manser PD (1984) Rice pests in the Gabon. <https://www.cabi.org/isc/abstract/19850521097>. Accessed 14 Aug 2021
- Mansfield J, Genin S, Magori S, et al (2012) Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 13:614–629. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2012.00804.X>
- Maqbool A, Saitoh H, Franceschetti M, et al (2015) Structural basis of pathogen recognition by an integrated HMA domain in a plant NLR immune receptor. *Elife* 4:. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.08709>
- Marois E, Van Den Ackerveken G, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.7.637>
- Martin R, Qi T, Zhang H, et al (2020) Structure of the activated ROQ1 resistosome directly recognizing the pathogen effector XopQ. *Science* (80-) 370:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABD9993>
- Matsuoka M, Fukayama H, Ku MSB, Miyao M (2001) High-level expression of 4 photosynthetic genes in transgenic rice. 439–447. https://doi.org/10.1142/9789812814296_0029
- McDonald BA, Linde C (2002a) Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:349–379
- McDonald BA, Linde C (2002b) The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica* 2002 1242 124:163–180. <https://doi.org/10.1023/A:1015678432355>
- McNally KL, Childs KL, Bohnert R, et al (2009) Genomewide SNP variation reveals relationships among landraces and modern varieties of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:12273–12278. <https://doi.org/10.1073/pnas.0900992106>
- Meckler JF, Bhakta MS, Kim M-S, et al (2013) Quantitative analysis of TALE–DNA interactions suggests polarity effects. *Nucleic Acids Res* 41:4118–4128. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT085>
- Medina CA, Reyes PA, Trujillo CA, et al (2018) The role of type III effectors from *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in virulence and suppression of plant immunity. *Mol Plant Pathol* 19:593–606. <https://doi.org/10.1111/mpp.12545>
- Meng X, Zhang S (2013) MAPK cascades in plant disease resistance signaling. *Annu Rev Phytopathol* 51:245–266. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082712-102314>
- Mesarich CH, Bowen JK, Hamiaux C, Templeton MD (2015) Repeat-containing protein effectors of plant-associated organisms. *Front Plant Sci* 0:872. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00872>
- Mew TW (1992) Changes in Race Frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Response to Rice Cultivars Planted in the Philippines . *Plant Dis* 76:1029. <https://doi.org/10.1094/PD-76-1029>

- Mew TW (1989) An overview of the world bacterial blight situation. https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=G_L8pPRZmjwC&oi=fnd&pg=PA7&dq=Mew+TW.+1989.+An+overview+of+the+world+bacterial+blight+situation.+Bac-+terial+blight+of+rice,+p+7-12.+In+Bacterial+blight+of+rice:+proceedings+of+the+International+Workshop+on+Bacte. Accessed 14 Aug 2021
- Mew TW (1993) Focus on Bacterial Blight of Rice. *Plant Dis* 77:5. <https://doi.org/10.1094/PD-77-0005>
- Meyer RS, Choi JY, Sanches M, et al (2016) Domestication history and geographical adaptation inferred from a SNP map of African rice. *Nat Genet* 48:1083–1088. <https://doi.org/10.1038/ng.3633>
- Miller JC, Tan S, Qiao G, et al (2010) A TALE nuclease architecture for efficient genome editing. *Nat Biotechnol* 29:143–148. <https://doi.org/10.1038/nbt.1755>
- Miyanari Y, Ziegler-Birling C, Torres-Padilla M-E (2013) Live visualization of chromatin dynamics with fluorescent TALEs. *Nat Struct Mol Biol* 20:1321–1324. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2680>
- Mizukami T, Wakimoto S (1969) Epidemiology and Control of Bacterial Leaf Blight of Rice. *Annu Rev Phytopathol* 7:51–72. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.07.090169.000411>
- Mizuno H, Kasuga S, Kawahigashi H (2016) The sorghum SWEET gene family: stem sucrose accumulation as revealed through transcriptome profiling. *Biotechnol Biofuels* 9:1–12. <https://doi.org/10.1186/S13068-016-0546-6>
- Mondal KK, Soni M, Verma G, et al (2020) *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* depends on multiple non-TAL (Xop) T3SS effectors for its coveted growth inside the pomegranate plant through repressing the immune responses during bacterial blight development. *Microbiol Res* 240:126560. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126560>
- Mondragon-Palomino M, Gaut BS (2005) Gene Conversion and the Evolution of Three Leucine-Rich Repeat Gene Families in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Biol Evol* 22:2444–2456. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSI241>
- Moon JY, Park JM (2016) Cross-Talk in Viral Defense Signaling in Plants. *Front Microbiol* 7:2068. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.02068>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Mundt CC (2002) Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:381–410
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant59032607092911> 59:651–681. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.ARPLANT.59.032607.092911>

- Natarajkumar P, Mishra BK (2008) Molecular mapping of a novel bacterial blight resistance gene from *Oryza nivara* Mathematical models on cyber attack in wired and wireless network View project bio prospecting of genes and allele mining for abiotic stress tolerance View project
- Neff KL, Argue DP, Ma AC, et al (2013) Mojo Hand, a TALEN design tool for genome editing applications. *BMC Bioinforma* 2013 14:1–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-1>
- Ngou BPM, Ahn H-K, Ding P, et al (2020) Estradiol-inducible AvrRps4 expression reveals distinct properties of TIR-NLR-mediated effector-triggered immunity. *J Exp Bot* 71:2186–2197. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERZ571>
- Ngou BPM, Ahn H-K, Ding P, Jones JDG (2021) Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors. *Nat* 2021 5927852 592:110–115. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03315-7>
- Nguyen VN (2003) Recent development in rice production in Sub-Sahara Africa and the dissemination of NERICA. *FAO-Japanese Nihon Univ Symp Food Secur Africa*, Nihon Univ Fujisawa, Japan, 2003
- Nicaise V, Candresse T (2017) Plum pox virus capsid protein suppresses plant pathogen-associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity. *Mol Plant Pathol* 18:878–886. <https://doi.org/10.1111/MPP.12447>
- Niehl A, Wyrsh I, Boller T, Heinlein M (2016) Double-stranded RNAs induce a pattern-triggered immune signaling pathway in plants. *New Phytol* 211:1008–1019. <https://doi.org/10.1111/nph.13944>
- Niño-Liu DO, Ronald PC, Bogdanove AJ (2006) *Xanthomonas oryzae* pathovars: Model pathogens of a model crop. *Mol Plant Pathol* 7:303–324. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x>
- Niroula RK, Pucciariello C, Ho VT, et al (2012) SUB1A-dependent and -independent mechanisms are involved in the flooding tolerance of wild rice species. *Plant J* 72:282–293. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2012.05078.X>
- Noda T, Yamamoto T (2008) Reaction of *Leersia* grasses to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* collected from Japan and Asian countries. *J Gen Plant Pathol* 2008 74:395–401. <https://doi.org/10.1007/S10327-008-0118-0>
- Nomura H, Komori T, Uemura S, et al (2012) Chloroplast-mediated activation of plant immune signalling in *Arabidopsis*. *Nat Commun* 2012 31 3:1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms1926>
- Nühse TS, Bottrill AR, Jones AME, Peck SC (2007) Quantitative phosphoproteomic analysis of plasma membrane proteins reveals regulatory mechanisms of plant innate immune responses. *Plant J* 51:931–940. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2007.03192.X>
- Nühse TS, Peck SC, Hirt H, Boller T (2000) Microbial Elicitors Induce Activation and Dual Phosphorylation of the *Arabidopsis thaliana* MAPK 6 *. *J Biol Chem* 275:7521–7526. <https://doi.org/10.1074/JBC.275.11.7521>

- Ochiai H, INOUE Y, TAKEYA M, et al (2005) Genome Sequence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Suggests Contribution of Large Numbers of Effector Genes and Insertion Sequences to Its Race Diversity. *Japan Agric Res Q JARQ* 39:275–287. <https://doi.org/10.6090/JARQ.39.275>
- Ogawa T (1993) Methods and Strategy for Monitoring Race Distribution and Identification of Resistance Genes to Bacterial Leaf Blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) in Rice. *JARQ* 27:71–80
- Ogawa T (1988) Near-isogenic lines as international differentials for resistance to bacterial blight of rice. *Rice Genet Newsl* 5:106–107
- Ogawa T, Busto GA, Tabien JRE, et al (1991) Grouping of Rice Cultivars based on Reaction Pattern to Philippine Races of Bacterial Blight Pathogen (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*). *Japanese J Breed* 41:109–119. <https://doi.org/10.1270/JSBBS1951.41.109>
- Ojanen T, Helander IM, Haahtela K, et al (1993) Outer membrane proteins and lipopolysaccharides in pathovars of *Xanthomonas campestris*. *Appl Environ Microbiol* 59:4143–4151. <https://doi.org/10.1128/AEM.59.12.4143-4151.1993>
- Orjuela J, Sabot F, Chéron S, et al (2014) An extensive analysis of the African rice genetic diversity through a global genotyping. *Theor Appl Genet* 127:2211–2223. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2374-z>
- Osman HA, Ameen HH, Mohamed M, Elkelany US (2020) Efficacy of integrated microorganisms in controlling root-knot nematode *Meloidogyne javanica* infecting peanut plants under field conditions. *Bull Natl Res Cent* 2020 441 44:1–10. <https://doi.org/10.1186/S42269-020-00366-0>
- Ou SH (1985) *Rice Diseases* - Shu Huang Ou, Commonwealth Mycological Institute (Great Britain) - Google Books. [https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=-k3mewv9nMoC&oi=fnd&pg=PR1&dq=Ou,+S.H.+\(1972\)+Rice+Diseases.+Kew,+Surrey:+Commonwealth+Mycological+Institute&ots=Zmj_ryvifh&sig=_IBFY6CEqaO1J3ryoPRe7Ui9zhQ#v=onepage&q&f=false](https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=-k3mewv9nMoC&oi=fnd&pg=PR1&dq=Ou,+S.H.+(1972)+Rice+Diseases.+Kew,+Surrey:+Commonwealth+Mycological+Institute&ots=Zmj_ryvifh&sig=_IBFY6CEqaO1J3ryoPRe7Ui9zhQ#v=onepage&q&f=false). Accessed 14 Aug 2021
- Pallas V, García JA (2011) How do plant viruses induce disease? Interactions and interference with host components. *J Gen Virol* 92:2691–2705. <https://doi.org/10.1099/VIR.0.034603-0>
- Palmgren MG, Edenbrandt AK, Vedel SE, et al (2015) Are we ready for back-to-nature crop breeding? *Trends Plant Sci.* 20:155–164
- Pandey MK, Shobha Rani N, Sundaram RM, et al (2012) Improvement of two traditional Basmati rice varieties for bacterial blight resistance and plant stature through morphological and marker-assisted selection. *Mol Breed* 2012 311 31:239–246. <https://doi.org/10.1007/S11032-012-9779-7>
- Pandey SP, Somssich IE (2009) The Role of WRKY Transcription Factors in Plant Immunity. *Plant Physiol* 150:1648–1655. <https://doi.org/10.1104/PP.109.138990>

- Park JM, Park C-J, Lee S-B, et al (2001) Overexpression of the Tobacco Tsi1 Gene Encoding an EREBP/AP2-Type Transcription Factor Enhances Resistance against Pathogen Attack and Osmotic Stress in Tobacco. *Plant Cell* 13:1035–1046. <https://doi.org/10.1105/TPC.13.5.1035>
- Pedley KF, Martin GB (2005) Role of mitogen-activated protein kinases in plant immunity. *Curr Opin Plant Biol* 8:541–547. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2005.07.006>
- Pérez-Quintero AL, Lamy L, L.Gordon J, et al (2015) QueTAL: A suite of tools to classify and compare TAL effectors functionally and phylogenetically. *Front Plant Sci* 6:1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00545>
- Pérez-Quintero AL, Rodriguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Perez-Quintero AL, Szurek B (2019) A Decade Decoded: Spies and Hackers in the History of TAL Effectors Research. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100026> 57:459–481. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082718-100026>
- Petpisit V, Khush GS, Kauffman HE (1977) Inheritance of Resistance to Bacterial Blight in Rice1. *Crop Sci* 17:551–554. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI1977.0011183X001700040018X>
- Pieterse CMJ, Leon-Reyes A, Van der Ent S, Van Wees SCM (2009) Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nat Chem Biol* 2009 55 5:308–316. <https://doi.org/10.1038/nchembio.164>
- Poland JA, Balint-Kurti PJ, Wisser RJ, et al (2009) Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci.* 14:21–29
- Ponciano G, Webb K, Bai J, et al (2004) Molecular characterization of the *avrXa7* locus from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* field isolates. *Physiol Mol Plant Pathol* 64:145–153. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.08.001>
- Popov G, Fraiture M, Brunner F, Sessa G (2016) Multiple *Xanthomonas euvesicatoria* Type III Effectors Inhibit *flg22*-Triggered Immunity. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R> 29:651–660. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R>
- Portères R (1962) Berceaux Agricoles Primaires Sur Le Continent Africain. *J Afr Hist* 3:195–210. <https://doi.org/10.1017/S0021853700003030>
- Postma J, Liebrand TWH, Bi G, et al (2016) *Avr4* promotes Cf-4 receptor-like protein association with the BAK1/SERK3 receptor-like kinase to initiate receptor endocytosis and plant immunity. *New Phytol* 210:627–642. <https://doi.org/10.1111/NPH.13802>
- Potrykus (2003) *Rice Science: Innovations and Impact for Livelihood* - Google Books. https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=Bkzs5PwmRFMC&oi=fnd&pg=PA379&dq=potrykus+2003+Golden+rice&ots=BRAYjmyX4O&sig=Qcxnu2ozNPO_CpBCzdIjhma20FQ&redir_esc=y#v=onepage&q=potrykus+2003+Golden+rice&f=false. Accessed 12 Aug 2021

- Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698. <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>
- Poulin L, Raveloson H, Sester M, et al (2014) Confirmation of bacterial leaf streak caused by *xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* on rice in Madagascar. *Plant Dis* 98:1423. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-14-0132-PDN>
- Pruitt RN, Schwessinger B, Joe A, et al (2015) The rice immune receptor XA21 recognizes a tyrosine-sulfated protein from a Gram-negative bacterium. *Sci Adv* 1:e1500245. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500245>
- Purugganan MD (2019) Evolutionary Insights into the Nature of Plant Domestication. *Curr Biol* 29:R705–R714. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2019.05.053>
- Qi D, DeYoung BJ, Innes RW (2012) Structure-Function Analysis of the Coiled-Coil and Leucine-Rich Repeat Domains of the RPS5 Disease Resistance Protein. *Plant Physiol* 158:1819–1832. <https://doi.org/10.1104/PP.112.194035>
- Qiu D, Xiao J, Ding X, et al (2007) OsWRKY13 mediates rice disease resistance by regulating defense-related genes in salicylate- and jasmonate-dependent signaling. *Mol Plant Microbe Interact* 20:492–499. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0492>
- Quibod IL, Atieza-Grande G, Oreiro EG, et al (2020) The Green Revolution shaped the population structure of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *ISME J* 14:492–505. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0545-2>
- Quibod IL, Perez-Quintero A, Booher NJ, et al (2016) Effector Diversification Contributes to *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* Phenotypic Adaptation in a Semi-Isolated Environment. *Sci Rep* 6:1–11. <https://doi.org/10.1038/srep34137>
- Raghavan C, Mauleon R, Lacorte V, et al (2017) Approaches in Characterizing Genetic Structure and Mapping in a Rice Multiparental Population. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 7:1721–1730. <https://doi.org/10.1534/G3.117.042101>
- Rajeshwari R, Sonti R V. (2000) Stationary-phase variation due to transposition of novel insertion elements in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J Bacteriol* 182:4797–4802. <https://doi.org/10.1128/JB.182.17.4797-4802.2000>
- Ramakrishnan SM, Sidhu JS, Ali S, et al (2019) Molecular characterization of bacterial leaf streak resistance in hard winter wheat. *PeerJ* 2019:. <https://doi.org/10.7717/peerj.7276>
- Ranf S, Eschen-Lippold L, Pecher P, et al (2011) Interplay between calcium signalling and early signalling elements during defence responses to microbe- or damage-associated molecular patterns. *Plant J* 68:100–113. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2011.04671.X>
- Ray SK, Rajeshwari R, Sharma Y, Sonti R V. (2002) A high-molecular-weight outer membrane protein of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* exhibits similarity to non-fimbrial adhesins of

animal pathogenic bacteria and is required for optimum virulence. *Mol Microbiol* 46:637–647. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2958.2002.03188.X>

- Rayapuram N, Bonhomme L, Bigeard J, et al (2014) Identification of Novel PAMP-Triggered Phosphorylation and Dephosphorylation Events in *Arabidopsis thaliana* by Quantitative Phosphoproteomic Analysis. *J Proteome Res* 13:2137–2151. <https://doi.org/10.1021/PR401268V>
- Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020a) Genome assembly and characterization of a complex zFBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zFBED-NLR gene-containing Dis Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678. <https://doi.org/10.1101/675678>
- Read AC, Hutin M, Moscou MJ, et al (2020b) Cloning of the rice Xo1 resistance gene and interaction of the Xo1 protein with the defense-suppressing *Xanthomonas* effector Tal2h. *Mol Plant-Microbe Interact* 33:1189–1195. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-20-0131-SC>
- Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516>
- Reckhaus PM (1983) Occurrence of Bacterial Blight of Rice in Niger, West Africa. *Plant Dis* 67:1039. <https://doi.org/10.1094/PD-67-1039>
- Redditt TJ, Chung E-H, Karimi HZ, et al (2019) AvrRpm1 Functions as an ADP-Ribosyl Transferase to Modify NOI Domain-Containing Proteins, Including *Arabidopsis* and Soybean RPM1-Interacting Protein4. *Plant Cell* 31:2664–2681. <https://doi.org/10.1105/TPC.19.00020>
- Regenmortel MHV van, Fauquet CM, Bishop DHL, et al (2000) Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Virus Taxon Classif Nomencl viruses Seventh Rep Int Comm Taxon Viruses*
- Rigano LA, Siciliano F, Enrique R, et al (2007) Biofilm Formation, Epiphytic Fitness, and Canker Development in *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-20-10-1222> 20:1222–1230. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-10-1222>
- Rivas S, Thomas CM (2005) Molecular interactions between tomato and the leaf mold pathogen *Cladosporium fulvum*. *Annu Rev Phytopathol* 43:395–436. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.140224>
- Robatzek S, Bittel P, Chinchilla D, 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. <https://doi.org/10.1007/s11103-007-9173-8>
- Rodriguez-R LM, Konstantinidis KT (2016) The enveomics collection: a toolbox for specialized analyses of microbial genomes and metagenomes. <https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.1900v1>

- Romagosa I, Prada D, Moralejo MA, et al (2001) Dormancy, ABA content and sensitivity of a barley mutant to ABA application during seed development and after ripening. *J Exp Bot* 52:1499–1506. <https://doi.org/10.1093/JEXBOT/52.360.1499>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Römer P, Recht S, Strauß T, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03217.X>
- Roux F, Voisin D, Badet T, et al (2014) Resistance to phytopathogens e tutti quanti: Placing plant quantitative disease resistance on the map. *Mol Plant Pathol* 15:427–432. <https://doi.org/10.1111/MPP.12138>
- Ruh M, Briand M, Bonneau S, et al (2017) *Xanthomonas* adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. *BMC Genomics* 18:670. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4087-6>
- Ryba-White M, Notteghem JL, Leach J. (1995) Comparison of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains from Africa, North America, and Asia by restriction fragment length polymorphism analysis. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=QR9500053>. Accessed 14 Aug 2021
- Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, et al (2003) Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theor Appl Genet* 106:794–803. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1088-9>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 91 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Sano Y (1990) The genic nature of gamete eliminator in rice. *Genetics* 125:183–191. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/125.1.183>
- Sarris PF, Duxbury Z, Huh SU, et al (2015) A Plant Immune Receptor Detects Pathogen Effectors that Target WRKY Transcription Factors. *Cell* 161:1089–1100. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.04.024>
- Sasaki T, Burr B (2000) International Rice Genome Sequencing Project: The effort to completely sequence the rice genome. *Curr Opin Plant Biol* 3:138–142. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)00047-3](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)00047-3)
- Sax K (1923) The Association of Size Differences with Seed-Coat Pattern and Pigmentation in *PHASEOLUS VULGARIS*. *Genetics* 8:552

- Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol* 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>
- Schirawski J, Perlin MH (2018) Plant–microbe interaction 2017—the good, the bad and the diverse. *Int J Mol Sci* 19:. <https://doi.org/10.3390/ijms19051374>
- Schornack S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>
- Schornack S, Peter K, Bonas U, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-1215>
- Schultink A, Qi T, Bally J, Staskawicz B (2019) Using forward genetics in *Nicotiana benthamiana* to uncover the immune signaling pathway mediating recognition of the *Xanthomonas perforans* effector XopJ4. *New Phytol* 221:1001–1009. <https://doi.org/10.1111/NPH.15411>
- Schwartz AR, Morbitzer R, Lahaye T, Staskawicz BJ (2017) TALE-induced bHLH transcription factors that activate a pectate lyase contribute to water soaking in bacterial spot of tomato. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114:E897–E903. <https://doi.org/10.1073/pnas.1620407114>
- Semon M, Nielsen R, Jones MP, McCouch SR (2005) The Population Structure of African Cultivated Rice *Oryza glaberrima* (Steud.). *Genetics* 169:1639–1647. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.033175>
- Serra H, Choi K, Zhao X, et al (2018) Interhomolog polymorphism shapes meiotic crossover within RAC1 and RPP13 disease resistance genes. *bioRxiv* 290478. <https://doi.org/10.1101/290478>
- Serrano M, Coluccia F, Torres M, et al (2014) The cuticle and plant defense to pathogens. *Front Plant Sci* 0:274. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00274>
- Seto D, Koulena N, Lo T, et al (2017) Expanded type III effector recognition by the ZAR1 NLR protein using ZED1-related kinases. *Nat Plants* 2017 34 3:1–4. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.27>
- Shao F, Golstein C, Ade J, et al (2003) Cleavage of Arabidopsis PBS1 by a Bacterial Type III Effector. *Science* (80-) 301:1230–1233. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1085671>
- Shen X, LIU H, YUAN B, et al (2011) OsEDR1 negatively regulates rice bacterial resistance via activation of ethylene biosynthesis. *Plant Cell Environ* 34:179–191. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2010.02219.X>
- Shibata Y, Kawakita K, Takemoto D (2010) Age-Related Resistance of *Nicotiana benthamiana* Against Hemibiotrophic Pathogen *Phytophthora infestans* Requires Both Ethylene- and Salicylic Acid–Mediated Signaling Pathways. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-23-9-1130> 23:1130–1142. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-9-1130>

- Shimizu T, Nakano T, Takamizawa D, et al (2010) Two LysM receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice. *Plant J* 64:204–214. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04324.x>
- Shivaprasad P V., Chen HM, Patel K, et al (2012) A microRNA superfamily regulates nucleotide binding site-leucine-rich repeats and other mRNAs. *Plant Cell* 24:859–874. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.095380>
- Si M, Wang Y, Zhang B, et al (2017a) The Type VI Secretion System Engages a Redox-Regulated Dual-Functional Heme Transporter for Zinc Acquisition. *Cell Rep* 20:949–959. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2017.06.081>
- Si M, Zhao C, Burkinshaw B, et al (2017b) Manganese scavenging and oxidative stress response mediated by type VI secretion system in *Burkholderia thailandensis*. *Proc Natl Acad Sci* 114:E2233–E2242. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1614902114>
- Sidhu GS, Khush GS, Mew TW (1978) Genetic analysis of bacterial blight resistance in seventy-four cultivars of rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 1978 533 53:105–111. <https://doi.org/10.1007/BF00272687>
- Sigee DC (1993) *Bacterial Plant Pathology*. *Bact Plant Pathol*. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511525476>
- Silva L da C e, Cruz CD, Moreira MA, Barros EG de (2007) Simulation of population size and genome saturation level for genetic mapping of recombinant inbred lines (RILs). *Genet Mol Biol* 30:1101–1108. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572007000600013>
- Simpson AJG, Reinach FC, Arruda P, et al (2000) The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Nat* 2000 4066792 406:151–157. <https://doi.org/10.1038/35018003>
- Singh DV, Banerjee AK, Kishun R, Abidi AB (1980) Effect of bacterial leaf streak on the quantitative and qualitative characters of rice. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301294453>. Accessed 14 Aug 2021
- Slootweg EJ, Spiridon LN, Roosien J, et al (2013) Structural Determinants at the Interface of the ARC2 and Leucine-Rich Repeat Domains Control the Activation of the Plant Immune Receptors Rx1 and Gpa2. *Plant Physiol* 162:1510–1528. <https://doi.org/10.1104/PP.113.218842>
- Soller M, Brody T, Genizi A (1976) On the power of experimental designs for the detection of linkage between marker loci and quantitative loci in crosses between inbred lines. *Theor Appl Genet* 47:35–39. <https://doi.org/10.1007/BF00277402>
- Song C, Yang B (2010) Mutagenesis of 18 type III effectors reveals virulence function of XopZPXO99in *xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant-Microbe Interact* 23:893–902. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-7-0893>
- Soreng RJ, Peterson PM, Romaschenko K, et al (2015) A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). *J Syst Evol* 53:117–137. <https://doi.org/10.1111/jse.12150>

- Spoel SH, Dong X (2012) How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nat Rev Immunol* 2012 122 12:89–100. <https://doi.org/10.1038/nri3141>
- Spoel SH, Johnson JS, Dong X (2007) Regulation of tradeoffs between plant defenses against pathogens with different lifestyles. *Proc Natl Acad Sci* 104:18842–18847. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0708139104>
- St.clair DA (2010) Quantitative disease resistance and quantitative resistance loci in breeding. *Annu Rev Phytopathol* 48:247–268. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081904>
- Stam R, Scheikl D, Tellier A (2016) Pooled Enrichment Sequencing Identifies Diversity and Evolutionary Pressures at NLR Resistance Genes within a Wild Tomato Population. *Genome Biol Evol* 8:1501–1515. <https://doi.org/10.1093/GBE/EVW094>
- Stam R, Silva-Arias GA, Tellier A (2019) Subsets of NLR genes show differential signatures of adaptation during colonization of new habitats. *New Phytol* 224:367–379. <https://doi.org/10.1111/NPH.16017>
- Starr MP (1981) The Genus *Xanthomonas*. *The Prokaryotes* 742–763. https://doi.org/10.1007/978-3-662-13187-9_62
- Stein JC, Yu Y, Copetti D, et al (2018) Genomes of 13 domesticated and wild rice relatives highlight genetic conservation, turnover and innovation across the genus *Oryza*. *Nat Genet* 50:285–296. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0040-0>
- Stergiopoulos I, De Wit PJGM (2009) Fungal Effector Proteins. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto.112408132637> 47:233–263. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.112408.132637>
- Stingl K, Müller S, Scheidgen-Kleyboldt G, et al (2010) Composite system mediates two-step DNA uptake into *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci* 107:1184–1189. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0909955107>
- Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW (2002) Biofilms as Complex Differentiated Communities. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.micro.56012302160705> 56:187–209. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.MICRO.56.012302.160705>
- Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>
- Streubel J, Blücher C, Landgraf A, Boch J (2012) TAL effector RVD specificities and efficiencies. *Nat Biotechnol* 30:593–595. <https://doi.org/10.1038/nbt.2304>
- Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>
- Sturtevant AH (1913) The linear arrangement of six sex linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *J Exp Zool* 14:43–59. <https://doi.org/10.1002/jez.1400140104>

- Su J, Yang L, Zhu Q, et al (2018) Active photosynthetic inhibition mediated by MPK3/MPK6 is critical to effector-triggered immunity. *PLOS Biol* 16:e2004122. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.2004122>
- Sugano S, Sugimoto T, Takatsuji H, Jiang C-J (2013) Induction of resistance to *Phytophthora sojae* in soyabean (*Glycine max*) by salicylic acid and ethylene. *Plant Pathol* 62:1048–1056. <https://doi.org/10.1111/PPA.12011>
- Sugio A, Yang B, Zhu T, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701742104>
- Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) *Xa26*, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>
- Sun Y, Li L, Macho AP, et al (2013) Structural basis for *flg22*-induced activation of the *Arabidopsis* FLS2-BAK1 immune complex. *Science* (80-) 342:624–628. <https://doi.org/10.1126/science.1243825>
- Sundaram RM, Vishnupriya MR, Biradar SK, et al (2007) Marker assisted introgression of bacterial blight resistance in Samba Mahsuri, an elite indica rice variety. *Euphytica* 2007 1603 160:411–422. <https://doi.org/10.1007/S10681-007-9564-6>
- Sweeney M, McCouch S (2007) The Complex History of the Domestication of Rice. *Ann Bot* 100:951–957. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm128>
- Swings J, Mooter M Van Den, Vauterin L, et al (1990) Reclassification of the causal agents of bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of rice as pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev. *Int J Syst Bacteriol* 40:309–311. <https://doi.org/10.1099/00207713-40-3-309>
- Szczesny R, Jordan M, Schramm C, et al (2010) Functional characterization of the Xcs and Xps type II secretion systems from the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *New Phytol* 187:983–1002. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03312.X>
- Szurek B, Rossier O, Hause G, Bonas U (2002) Type III-dependent translocation of the *Xanthomonas* AvrBs3 protein into the plant cell. *Mol Microbiol* 46:13–23. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03139.x>
- Tagami Y, Mizukami T (1962) Historical review of the researches on bacterial blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* (Uyede and Ishiyama) Dowson. *Spec Rep Plant Dis Ins Pests Forecast Serv* 10:112
- Taheri P, Tarighi S (2010) Riboflavin induces resistance in rice against *Rhizoctonia solani* via jasmonate-mediated priming of phenylpropanoid pathway. *J Plant Physiol* 167:201–208. <https://doi.org/10.1016/J.JPLPH.2009.08.003>

- Takai R, Isogai A, Takayama S, Che FS (2008) Analysis of flagellin perception mediated by flg22 receptor OsFLS2 in rice. *Mol Plant-Microbe Interact* 21:1635–1642. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-12-1635>
- Takken FL, Albrecht M, Tameling W IL, et al (2006) Resistance proteins: molecular switches of plant defence. *9:383–390*. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2006.05.009>
- Takken FLW, Govere A (2012) How to build a pathogen detector: structural basis of NB-LRR function. *Curr Opin Plant Biol* 15:375–384. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2012.05.001>
- Tameling WIL, Vossen JH, Albrecht M, et al (2006) Mutations in the NB-ARC Domain of I-2 That Impair ATP Hydrolysis Cause Autoactivation. *Plant Physiol* 140:1233–1245. <https://doi.org/10.1104/PP.105.073510>
- Tan GX, Ren X, Weng QM, et al (2004) Mapping of a new resistance gene to bacterial blight in rice line introgressed from *Oryza officinalis*. *Acta Genet Sin* 31:724–729
- Tao Z, Liu H, Qiu D, et al (2009) A pair of allelic WRKY genes play opposite roles in rice-bacteria interactions. *Plant Physiol* 151:936–948. <https://doi.org/10.1104/PP.109.145623>
- Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>
- Thiemele D, Albar L, Perez S, et al (2008) Diversité de gènes de résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV) chez l'espèce africaine du riz cultivé *O. glaberrima* Steud-fdi:010043928- Horizon. <https://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:010043928>. Accessed 12 Aug 2021
- Thomas CM, Dixon MS, Parniske M, et al (1998) Genetic and molecular analysis of tomato Cf genes for resistance to *Cladosporium fulvum*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 353:1413–1424. <https://doi.org/10.1098/RSTB.1998.0296>
- Tian D, Wang J, Zeng 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>
- Timilsina S, Potnis N, Newberry EA, et al (2020) *Xanthomonas* diversity, virulence and plant–pathogen interactions. *Nat Rev Microbiol* 18:415–427. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0361-8>
- Tintor N, Ross A, Kanehara K, et al (2013) Layered pattern receptor signaling via ethylene and endogenous elicitor peptides during *Arabidopsis* immunity to bacterial infection. *Proc Natl Acad Sci* 110:6211–6216. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1216780110>
- Torres MA, Dangl JL, Jones JDG (2002) *Arabidopsis* gp91phox homologues AtrbohD and AtrbohF are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response. *Proc Natl Acad Sci* 99:517–522. <https://doi.org/10.1073/PNAS.012452499>

- Torres PS, Malamud F, Rigano LA, et al (2007) Controlled synthesis of the DSF cell–cell signal is required for biofilm formation and virulence in *Xanthomonas campestris*. *Environ Microbiol* 9:2101–2109. <https://doi.org/10.1111/J.1462-2920.2007.01332.X>
- Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice. *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>
- Trdá L, Fernandez O, Boutrot F, 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. <https://doi.org/10.1111/nph.12592>
- Trinh T. (1980) New rice diseases and insects in the Senegal River basin in 1978/79. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19806734835>. Accessed 14 Aug 2021
- Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger 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. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>
- Triplett LR, Verdier V, Campillo T, et al (2015) Characterization of a novel clade of *Xanthomonas* isolated from rice leaves in Mali and proposal of *Xanthomonas maliensis* sp. nov. *Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol* 107:869–881
- Tsuda K, Mine A, Bethke G, et al (2013) Dual Regulation of Gene Expression Mediated by Extended MAPK Activation and Salicylic Acid Contributes to Robust Innate Immunity in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS Genet* 9:e1004015. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1004015>
- Ueno Y, Yoshida R, Kishi-Kaboshi M, et al (2015) Abiotic Stresses Antagonize the Rice Defence Pathway through the Tyrosine-Dephosphorylation of OsMPK6. *PLOS Pathog* 11:e1005231. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1005231>
- Üstün S, Börnke F (2014) Interactions of *Xanthomonas* type-III effector proteins with the plant ubiquitin and ubiquitin-like pathways. *Front Plant Sci* 0:736. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00736>
- Van Andel T (2010) African Rice (*Oryza glaberrima* Steud.): Lost Crop of the Enslaved Africans Discovered in Suriname1. *Econ Bot* 2010 641 64:1–10. <https://doi.org/10.1007/S12231-010-9111-6>
- Van de Weyer AL, Monteiro F, Furzer OJ, et al (2019) A Species-Wide Inventory of NLR Genes and Alleles in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 178:1260-1272.e14. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.07.038>
- Van Der Hoorn RAL, Kamoun S (2008) From guard to decoy: A new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell* 20:2009–2017. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.060194>

- Van Wees SC, Van der Ent S, Pieterse CM (2008) Plant immune responses triggered by beneficial microbes. *Curr Opin Plant Biol* 11:443–448. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2008.05.005>
- Vaughan DA, Lu BR, Tomooka N (2008) The evolving story of rice evolution. *Plant Sci* 174:394–408. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.01.016>
- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Triplett LR, Hummel AW, et al (2012) Transcription activator-like (TAL) effectors targeting OsSWEET genes enhance virulence on diverse rice (*Oryza sativa*) varieties when expressed individually in a TAL effector-deficient strain of *Xanthomonas oryzae*. *New Phytol* 196:1197–1207. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2012.04367.X>
- Verma G, Mondal KK, Kulshreshtha A, Sharma M (2019) XopR T3SS-effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* suppresses cell death-mediated plant defense response during bacterial blight development in rice. *3 Biotech* 9:272. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1802-9>
- Vikal Y, Bhatia D (2017) Genetics and Genomics of Bacterial Blight Resistance in Rice. In: *Advances in International Rice Research*. InTech
- Vleeshouwers V, Oliver R (2014) Effectors as tools in disease resistance breeding against biotrophic, hemibiotrophic, and necrotrophic plant pathogens. *Mol Plant Microbe Interact* 27:196–206. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-13-0313-IA>
- Vojnov AA, Zorreguieta A, Dow JM, et al (1998) Evidence for a role for the gumB and gumC gene products in the formation of xanthan from its pentasaccharide repeating unit by *Xanthomonas campestris*. *Microbiology* 144:1487–1493. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-6-1487>
- Vorhölter F-J, Niehaus K, Pühler A (2001) Lipopolysaccharide biosynthesis in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*: a cluster of 15 genes is involved in the biosynthesis of the LPS O-antigen and the LPS core. *Mol Genet Genomics* 201 266:79–95. <https://doi.org/10.1007/S004380100521>
- Voytas DF, Joung JK (2009) DNA Binding Made Easy. *Science* (80-) 326:1491–1492. <https://doi.org/10.1126/science.1183604>
- Waksman G (2019) From conjugation to T4S systems in Gram-negative bacteria: a mechanistic biology perspective. *EMBO Rep* 20:e47012. <https://doi.org/10.15252/EMBR.201847012>
- Wang C, Chen S, Feng A, et al (2021) Xa7, a Small Orphan Gene Harboring Promoter Trap for AvrXa7, Leads to the Durable Resistance to *Xanthomonas oryzae* Pv. *oryzae*. *Rice* 14:48. <https://doi.org/10.1186/s12284-021-00490-z>
- Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014a) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>

- Wang C, Wen G, Lin X, et al (2009) Identification and fine mapping of the new bacterial blight resistance gene, Xa31(t), in rice. *Eur J Plant Pathol* 123:235–240. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9356-4>
- Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015a) XA23 Is an executor protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>
- Wang D, Pan Y, Zhao X, et al (2011) Genome-wide temporal-spatial gene expression profiling of drought responsiveness in rice. *BMC Genomics* 2011 12:1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-149>
- Wang G, Ding X, Yuan M, et al (2006) Dual function of rice OsDR8 gene in disease resistance and thiamine accumulation. *Plant Mol Biol* 60:437–449. <https://doi.org/10.1007/S11103-005-4770-X>
- Wang G, Roux B, Feng F, 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. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2015.08.004>
- Wang JJ, Hu M, Wang JJ, et al (2019a) Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science* (80-) 364:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAV5870>
- Wang JJ, Wang JJ, Hu M, et al (2019b) Ligand-triggered allosteric ADP release primes a plant NLR complex. *Science* (80-) 364:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAV5868>
- Wang L, Rinaldi FC, Singh P, et al (2017) TAL Effectors Drive Transcription Bidirectionally in Plants. *Mol Plant* 10:285–296. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.12.002>
- Wang L, Zhao L, Zhang X, et al (2019c) Large-scale identification and functional analysis of NLR genes in blast resistance in the Tetep rice genome sequence. *Proc Natl Acad Sci* 116:18479–18487. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1910229116>
- Wang M, Yu Y, Haberer G, et al (2014b) The genome sequence of African rice (*Oryza glaberrima*) and evidence for independent domestication. *Nat Genet* 46:982–988. <https://doi.org/10.1038/ng.3044>
- Wang T, Si M, Song Y, et al (2015c) Type VI Secretion System Transports Zn²⁺ to Combat Multiple Stresses and Host Immunity. *PLOS Pathog* 11:e1005020. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1005020>
- Weaver LM, Swiderski MR, Li Y, Jones JDG (2006) The Arabidopsis thaliana TIR-NB-LRR R-protein, RPP1A; protein localization and constitutive activation of defence by truncated alleles in tobacco and Arabidopsis. *Plant J* 47:829–840. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2006.02834.X>
- Webb KM, Oña I, Bai J, et al (2010) A benefit of high temperature: increased effectiveness of a rice bacterial blight disease resistance gene. *New Phytol* 185:568–576. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2009.03076.X>

- Wei X, Liu F, Chen C, et al (2014) The *Malus domestica* sugar transporter gene family: identifications based on genome and expression profiling related to the accumulation of fruit sugars. *Front Plant Sci* 0:569. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00569>
- Wichmann G, Bergelson J (2004) Effector Genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* Promote Transmission and Enhance Other Fitness Traits in the Field. *Genetics* 166:693–706. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/166.2.693>
- Williams SJ, Sornaraj P, deCourcy-Ireland E, et al (2011) An Autoactive Mutant of the M Flax Rust Resistance Protein Has a Preference for Binding ATP, Whereas Wild-Type M Protein Binds ADP. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-03-11-0052> 24:897–906. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-11-0052>
- Willmann R, Lajunen HM, Erbs G, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112862108>
- Wing RA, Ammiraju JSS, Luo M, et al (2005) The *Oryza* map alignment project: The golden path to unlocking the genetic potential of wild rice species. *Plant Mol Biol* 59:53–62. <https://doi.org/10.1007/s11103-004-6237-x>
- Wonni I, Detemmerman L, Dao S, et al (2011) Genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* from West Africa — ILVO. <https://pureportal.ilvo.be/nl/publications/genetic-diversity-of-emxanthomonas-oryzae-empv-emoryzicolaem-from>. Accessed 14 Aug 2021
- Wood DW, Setubal JC, Kaul R, et al (2001) The Genome of the Natural Genetic Engineer *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* (80-) 294:2317–2323. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1066804>
- Wu L, Mei LG, Sreekala C, 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. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123356>
- Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x>
- Xiao J, Cheng H, Li X, et al (2013) Rice WRKY13 regulates cross talk between abiotic and biotic stress signaling pathways by selective binding to different cis-elements. *Plant Physiol* 163:1868–1882. <https://doi.org/10.1104/PP.113.226019>
- Xiao J, Grandlillo S, Sang Nag Ahn, et al (1996) Genes from wild rice improve yield. *Nature* 384:223–224. <https://doi.org/10.1038/384223a0>
- Xiao W, Liu H, Li Y, et al (2009) A rice gene of de novo origin negatively regulates pathogen-induced defense response. *PLoS One* 4:. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0004603>
- Xie Z, Nolan TM, Jiang H, Yin Y (2019) AP2/ERF transcription factor regulatory networks in hormone and abiotic stress responses in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 10:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00228>

- Xu D, Xue Q, McElroy D, et al (1996) Constitutive expression of a cowpea trypsin inhibitor gene, CpTi, in transgenic rice plants confers resistance to two major rice insect pests. *Mol Breed* 1996 22 2:167–173. <https://doi.org/10.1007/BF00441431>
- Yamada K, Yamaguchi K, Shirakawa T, et al (2016) The Arabidopsis CERK1-associated kinase PBL27 connects chitin perception to MAPK activation. *EMBO J* 35:2468–2483. <https://doi.org/10.15252/EMBJ.201694248>
- Yamaguchi K, Yamada K, Ishikawa K, et al (2013) A receptor-like cytoplasmic kinase targeted by a plant pathogen effector is directly phosphorylated by the chitin receptor and mediates rice immunity. *Cell Host Microbe* 13:347–357. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.02.007>
- Yamaguchi Y, Huffaker A, Bryan AC, et al (2010) PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in Arabidopsis. *Plant Cell* 22:508–522. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.068874>
- Yamaguchi Y, Pearce G, Ryan CA (2006) The cell surface leucine-rich repeat receptor for AtPep1, an endogenous peptide elicitor in Arabidopsis, is functional in transgenic tobacco cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10104–10109. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603729103>
- Yan H, Zhao Y, Shi H, et al (2018) BRASSINOSTEROID-SIGNALING KINASE1 Phosphorylates MAPKKK5 to Regulate Immunity in Arabidopsis. *Plant Physiol* 176:2991–3002. <https://doi.org/10.1104/PP.17.01757>
- Yang B, Bogdanove A (2013) Inoculation and Virulence Assay for Bacterial Blight and Bacterial Leaf Streak of Rice. *Methods Mol Biol* 956:249–255. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-194-3_18
- Yang B, Sugio A, White FF (2006) Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10503–10508. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604088103>
- Yang B, Zhu W, Johnson LB, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.170286897>
- Yang H, Gou X, He K, et al (2010) BAK1 and BKK1 in Arabidopsis thaliana confer reduced susceptibility to turnip crinkle virus. *Eur J Plant Pathol* 2010 1271 127:149–156. <https://doi.org/10.1007/S10658-010-9581-5>
- Yang JW, Yi HS, Kim H, et al (2011) Whitefly infestation of pepper plants elicits defence responses against bacterial pathogens in leaves and roots and changes the below-ground microflora. *J Ecol* 99:46–56. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01756.x>
- Yang Y, Feyter R De, Gabriel DW (1994) Host-Specific Symptoms and Increased Release of *Xanthomonas citri* and *X. campestris* pv. *malvacearum* from Leaves Are Determined by the 102-bp Tandem Repeats of *pthA* and *avrB6*, Respectively. *American Phytopathological Society*

- Yang Y, Gabriel DW (1995) Intragenic recombination of a single plant pathogen gene provides a mechanism for the evolution of new host specificities. *J Bacteriol* 177:4963–4968. <https://doi.org/10.1128/JB.177.17.4963-4968.1995>
- Yeats TH, Rose JKC (2013) The Formation and Function of Plant Cuticles. *Plant Physiol* 163:5–20. <https://doi.org/10.1104/PP.113.222737>
- Yonemaru JI, Ebana K, Yano M (2014) HapRice, an SNP haplotype database and a web tool for rice. *Plant Cell Physiol* 55:e9–e9. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct188>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Yoshimura S, Yoshimura A, Iwata N, et al (1995) Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers. *Mol Breed* 1:375–387. <https://doi.org/10.1007/BF01248415>
- Yu J, Hu S, Wang J, et al (2002) A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica). *Science* (80-) 296:79–92. <https://doi.org/10.1126/science.1068037>
- Yuan M, Jiang Z, Bi G, et al (2021) Pattern-recognition receptors are required for NLR-mediated plant immunity. *Nat* 2021 5927852 592:105–109. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03316-6>
- Yuan M, Ke Y, Huang R, et al (2016) A host basal transcription factor is a key component for infection of rice by TALE-carrying bacteria. *Elife* 5:. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.19605>
- Yue J-X, Meyers BC, Chen J-Q, et al (2012) Tracing the origin and evolutionary history of plant nucleotide-binding site–leucine-rich repeat (NBS-LRR) genes. *New Phytol* 193:1049–1063. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2011.04006.X>
- Yun MH, Torres PS, Oirdi M El, et al (2006) Xanthan Induces Plant Susceptibility by Suppressing Callose Deposition. *Plant Physiol* 141:178–187. <https://doi.org/10.1104/PP.105.074542>
- Zaka A, Grande G, Coronejo T, et al (2018) Natural variations in the promoter of OsSWEET13 and OsSWEET14 expand the range of resistance against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *PLoS One* 13:e0203711. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0203711>
- Zeng ZB (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136:1457–1468. <https://doi.org/10.1093/genetics/136.4.1457>
- Zhai J, Jeong DH, de Paoli E, et al (2011) MicroRNAs as master regulators of the plant NB-LRR defense gene family via the production of phased, trans-acting siRNAs. *Genes Dev* 25:2540–2553. <https://doi.org/10.1101/gad.177527.111>
- Zhang B, Zhang H, Li F, et al (2020) Multiple Alleles Encoding Atypical NLRs with Unique Central Tandem Repeats in Rice Confer Resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Commun* 1:. <https://doi.org/10.1016/J.XPLC.2020.100088>

- Zhang F, Zhuo D-L, Zhang F, et al (2015) Xa39, a novel dominant gene conferring broad-spectrum resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice. *Plant Pathol* 64:568–575. <https://doi.org/10.1111/PPA.12283>
- Zhang G, Chen M, Li L, et al (2009) Overexpression of the soybean GmERF3 gene, an AP2/ERF type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco. *J Exp Bot* 60:3781–3796. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp214>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>
- Zhang J, Shao F, Li Y, et al (2007) A *Pseudomonas syringae* Effector Inactivates MAPKs to Suppress PAMP-Induced Immunity in Plants. *Cell Host Microbe* 1:175–185. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2007.03.006>
- Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>
- Zhang L, Li H, Wang J (2012) The Statistical Power of Inclusive Composite Interval Mapping in Detecting Digenic Epistasis Showing Common F2 Segregation Ratios. *J Integr Plant Biol* 54:270–279. <https://doi.org/10.1111/J.1744-7909.2012.01110.X>
- Zhang Q, Chen Q, Wang S, et al (2014) Rice and cold stress: methods for its evaluation and summary of cold tolerance-related quantitative trait loci. *Rice* 2014 71 7:1–12. <https://doi.org/10.1186/S12284-014-0024-3>
- Zhang Q, Liang Z, Cui X, et al (2018) N6-Methyladenine DNA Methylation in Japonica and Indica Rice Genomes and Its Association with Gene Expression, Plant Development, and Stress Responses. *Mol Plant* 11:1492–1508. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2018.11.005>
- Zhang Y, Xia R, Kuang H, Meyers BC (2016) The Diversification of Plant NBS-LRR Defense Genes Directs the Evolution of MicroRNAs That Target Them. *Mol Biol Evol* 33:2692–2705. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSW154>
- Zhao H, Yao W, Ouyang Y, et al (2015) RiceVarMap: A comprehensive database of rice genomic variations. *Nucleic Acids Res* 43:D1018–D1022. <https://doi.org/10.1093/nar/gku894>
- Zheng CK, WANG CL, YU YJ, et al (2009) Identification and Molecular Mapping of Xa32(t), a Novel Resistance Gene for Bacterial Blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) in Rice. *Acta Agron Sin* 35:1173–1180. [https://doi.org/10.1016/S1875-2780\(08\)60089-9](https://doi.org/10.1016/S1875-2780(08)60089-9)
- Zhou J, Peng Z, Long J, et al (2015) Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. *Plant J* 82:632–643. <https://doi.org/10.1111/tpj.12838>
- Zhou Y, Yang P, Cui F, et al (2016) Transcriptome Analysis of Salt Stress Responsiveness in the Seedlings of Dongxiang Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *PLoS One* 11:e0146242. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0146242>

- Zhu S, Li Y, Vossen JH, et al (2012) Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Res* 21:89–99. <https://doi.org/10.1007/s11248-011-9510-1>
- Zhu W, Yang B, Chittoor JM, et al (1998) AvrXa10 contains an acidic transcriptional activation domain in the functionally conserved C terminus. *Mol Plant-Microbe Interact* 11:824–832. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.8.824>
- Zipfel C (2014) Plant pattern-recognition receptors. *Trends Immunol* 35:345–351. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.05.004>
- Zipfel C, Kunze G, Chinchilla D, et al (2006) Perception of the Bacterial PAMP EF-Tu by the Receptor EFR Restricts Agrobacterium-Mediated Transformation. *Cell* 125:749–760. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.03.037>
- Zipfel C, Oldroyd GED (2017) Plant signalling in symbiosis and immunity. *Nature* 543:328–336
- Zou M, Guan Y, Ren H, et al (2008) A bZIP transcription factor, OsABI5, is involved in rice fertility and stress tolerance. *Plant Mol Biol* 66:675–683. <https://doi.org/10.1007/S11103-008-9298-4>
- Zuo KJ, Qin J, Zhao JY, et al (2007) Over-expression GbERF2 transcription factor in tobacco enhances brown spots disease resistance by activating expression of downstream genes. *Gene* 391:80–90. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2006.12.019>
- Zvereva AS, Golyaev V, Turco S, et al (2016) Viral protein suppresses oxidative burst and salicylic acid-dependent autophagy and facilitates bacterial growth on virus-infected plants. *New Phytol* 211:1020–1034. <https://doi.org/10.1111/NPH.13967>

ii) Discussion

- Albar L, Lorieux M, Ahmadi N, et al (1998) Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus. I. QTLs identification and relationship between resistance and plant morphology. *Theor Appl Genet* 1998 977 97:1145–1154. <https://doi.org/10.1007/S001220051003>
- Andersen EJ, Nepal MP (2019) Diversification of Disease Resistance Receptors by Integrated Domain Fusions in Wheat and its Progenitors. *bioRxiv* 695148. <https://doi.org/10.1101/695148>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Athinuwat D, Prathuangwong S, Cursino L, Burr T (2009) *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* soybean cultivar virulence specificity is determined by avrbs3 homolog avrXgl. *Phytopathology* 99:996–1004. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-8-0996>

- Baggs E, Dagdas G, Krasileva K V. (2017) NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR IDentity. *Curr Opin Plant Biol* 38:59–67.
<https://doi.org/10.1016/J.PBI.2017.04.012>
- Ballvora A, Pierre M, Van den Ackerveken G, et al (2001) Genetic mapping and functional analysis of the tomato Bs4 locus governing recognition of the *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* AvrBs4 protein. *Mol Plant-Microbe Interact* 14:629–638.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.5.629>
- Barragan CA, Wu R, Kim ST, et al (2019) RPW8/HR repeats control NLR activation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet* 15:e1008313. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008313>
- Barrett LG, Thrall PH, Dodds PN, et al (2009) Diversity and Evolution of Effector Loci in Natural Populations of the Plant Pathogen *Melampsora lini*. *Mol Biol Evol* 26:2499–2513.
<https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSP166>
- Batut P, Gingeras TR (2013) RAMPAGE: Promoter Activity Profiling by Paired-End Sequencing of 5'-Complete cDNAs. *Curr Protoc Mol Biol* 104:25B.11.1-25B.11.16.
<https://doi.org/10.1002/0471142727.MB25B11S104>
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512.
<https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bogdanove AJ, Voytas DF (2011) TAL effectors: Customizable proteins for DNA targeting. *Science* (80-) 333:1843–1846. <https://doi.org/10.1126/science.1204094>
- Bonas U, Conrads-Strauch J, Balbo I (1993) Resistance in tomato to *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* is determined by alleles of the pepper-specific avirulence gene *avrBs3*. *Mol Gen Genet MGG* 1993 2381 238:261–269. <https://doi.org/10.1007/BF00279555>
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Brown JKM (2015) Durable Resistance of Crops to Disease: A Darwinian Perspective.
<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045914> 53:513–539.
<https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-102313-045914>
- Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- Cesari S, Bernoux M, Moncuquet P, et al (2014) A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: The “integrated decoy” hypothesis. *Front Plant Sci* 5:606.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00606>
- Chae E, Bomblies K, Kim ST, et al (2014) Species-wide Genetic Incompatibility Analysis Identifies Immune Genes as Hot Spots of Deleterious Epistasis. *Cell* 159:1341–1351.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.10.049>

- Chen S, Huang Z, Zeng L, et al (2008) High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae* resistance gene Xa7. *Mol Breed* 2008 223 22:433–441. <https://doi.org/10.1007/S11032-008-9187-1>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chu Z, Fu B, Yang H, et al (2006) Targeting xa13, a recessive gene for bacterial blight resistance in rice. *Theor Appl Genet* 112:455–461. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0145-6>
- Cook A, Guevara Y (1984) Hypersensitivity in *Capsicum chacoense* to race 1 of the bacterial spot pathogen of pepper
- Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ (2013) Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* (80-) 341:746–751. <https://doi.org/10.1126/science.1236011>
- Denancé N, Szurek B, Doyle EL, et al (2018) Two ancestral genes shaped the *Xanthomonas campestris* TAL effector gene repertoire. *New Phytol* 219:391–407. <https://doi.org/10.1111/nph.15148>
- Dong S, Stam R, Cano LM, et al (2014) Effector Specialization in a Lineage of the Irish Potato Famine Pathogen. *Science* (80-) 343:552–555. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1246300>
- Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT) 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122. <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2021) Epigenetic features improve TALE target prediction. *bioRxiv* 2021.06.14.448323
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2019) PrediTAL: A novel model learned from quantitative data allows for new perspectives on TALE targeting. *Public Library of Science*
- Erkes A, Reschke M, Boch J, Grau J (2017) Evolution of transcription activator-like effectors in *Xanthomonas oryzae*. *Genome Biol Evol* 9:1599–1699. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx108>
- Escolar L, Van Den Ackerveken G, Pieplow S, et al (2001) Type III secretion and in planta recognition of the *Xanthomonas* avirulence proteins AvrBs1 and AvrBsT. *Mol Plant Pathol* 2:287–296. <https://doi.org/10.1046/j.1464-6722.2001.00077.x>
- Ferreira RM, de Oliveira ACP, Moreira LM, et al (2015) A TALE of Transposition: Tn3-like transposons play a major role in the spread of pathogenicity determinants of *xanthomonas citri* and other *xanthomonads*. *MBio* 6:. <https://doi.org/10.1128/MBIO.02505-14>
- Flor HH (1971) Current status of the gene-for-gene concept. 275–296
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>

- González VM, Müller S, Baulcombe D, Puigdomènech P (2015) Evolution of NBS-LRR Gene Copies among Dicot Plants and its Regulation by Members of the miR482/2118 Superfamily of miRNAs. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.013>
- Grau J, Boch J, Posch S (2013) TALENoffer: genome-wide TALEN off-target prediction. *Bioinformatics* 29:2931–2932. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTT501>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Gururani MA, Venkatesh J, Upadhyaya CP, et al (2012) Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiol Mol Plant Pathol* 78:51–65. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2012.01.002>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>
- Hu Y, Zhang J, Jia H, et al (2014) Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E521–E529. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313271111>
- Huang L, Brooks S, Li W, et al (2009) Evolution of New Disease Specificity at a Simple Resistance Locus in a Crop–Weed Complex: Reconstitution of the Lr21 Gene in Wheat. *Genetics* 182:595–602. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.099614>
- Huerta AI, Delorean EE, Bossa-Castro AM, et al (2021) Resistance and susceptibility QTL identified in a rice MAGIC population by screening with a minor-effect virulence factor from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Biotechnol J* 19:51–63. <https://doi.org/10.1111/pbi.13438>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Jiang GH, Xia ZH, Zhou YL, et al (2006) Testifying the rice bacterial blight resistance gene xa5 by genetic complementation and further analyzing xa5 (Xa5) in comparison with its homolog TFIIAγ1. *Mol Genet Genomics* 275:354–366. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0091-7>
- Jordan T, Römer P, Meyer A, et al (2006) Physical delimitation of the pepper Bs3 resistance gene specifying recognition of the AvrBs3 protein from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Theor Appl Genet* 113:895–905. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0349-4>

- Kay S, Boch J, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0838>
- Kim NH, Choi HW, Hwang BK (2010) *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Effector AvrBsT Induces Cell Death in Pepper, but Suppresses Defense Responses in Tomato. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-23-8-1069> 23:1069–1082. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-8-1069>
- Kim S, Park J, Yeom S-I, et al (2017) New reference genome sequences of hot pepper reveal the massive evolution of plant disease-resistance genes by retroduplication. *Genome Biol* 2017 18:1–11. <https://doi.org/10.1186/S13059-017-1341-9>
- Krattinger SG, Keller B (2016) Molecular genetics and evolution of disease resistance in cereals. *New Phytol* 212:320–332. <https://doi.org/10.1111/NPH.14097>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al (2021) TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>
- Leister D (2004) Tandem and segmental gene duplication and recombination in the evolution of plant disease resistance genes. *Trends Genet* 20:116–122. <https://doi.org/10.1016/J.TIG.2004.01.007>
- Li F, Pignatta D, Bendix C, et al (2012) MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:1790–1795. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118282109>
- Li P, Long J, Huang Y, et al (2004) AvrXa3 : A novel member of avrBs3 gene family from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* has a dual function. *Prog Nat Sci* 14:774–780. <https://doi.org/10.1080/10020070412331344311>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Long J, Song C, Yan F, et al (2018) Non-TAL effectors from *xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* suppress peptidoglycan-triggered MAPK activation in rice. *Front Plant Sci* 871:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01857>
- Lu X, Kracher B, Saur IML, et al (2016) Allelic barley MLA immune receptors recognize sequence-unrelated avirulence effectors of the powdery mildew pathogen. *Proc Natl Acad Sci* 113:E6486–E6495. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1612947113>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Luu DD, Joe A, Chen Y, et al (2019) Biosynthesis and secretion of the microbial sulfated peptide RaxX and binding to the rice XA21 immune receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116:8525–8534. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818275116>

- M'Barek S Ben, Karisto P, Fakhfakh M, et al (2019) Improved control of *Septoria tritici* blotch in durum wheat using cultivar mixtures. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/664078>
- Mago R, Zhang P, Vautrin S, et al (2015) The wheat Sr50 gene reveals rich diversity at a cereal disease resistance locus. *Nat Plants* 2015 112 1:1–3. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.186>
- McDonald BA, Linde C (2002a) Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:349–379
- McDonald BA, Linde C (2002b) The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica* 2002 1242 124:163–180. <https://doi.org/10.1023/A:1015678432355>
- Mesarich CH, Bowen JK, Hamiaux C, Templeton MD (2015) Repeat-containing protein effectors of plant-associated organisms. *Front Plant Sci* 0:872. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00872>
- Minsavage G V. (1990) Gene-For-Gene Relationships Specifying Disease Resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* - Pepper Interactions. *Mol Plant-Microbe Interact* 3:41. <https://doi.org/10.1094/MPMI-3-041>
- Mondragon-Palomino M, Gaut BS (2005) Gene Conversion and the Evolution of Three Leucine-Rich Repeat Gene Families in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Biol Evol* 22:2444–2456. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSI241>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Mundt CC (2002) Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:381–410
- Osdaghi E, Jones JB, Sharma A, et al (2021) A centenary for bacterial spot of tomato and pepper. *Mol Plant Pathol* 22:1500–1519. <https://doi.org/10.1111/mpp.13125>
- Pérez-Quintero AL, Rodríguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Perez-Quintero AL, Szurek B (2019) A Decade Decoded: Spies and Hackers in the History of TAL Effectors Research. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100026> 57:459–481. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082718-100026>
- Poland JA, Balint-Kurti PJ, Wisser RJ, et al (2009) Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci.* 14:21–29
- Ponciano G, Webb K, Bai J, et al (2004) Molecular characterization of the *avrXa7* locus from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* field isolates. *Physiol Mol Plant Pathol* 64:145–153. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.08.001>
- Popov G, Fraiture M, Brunner F, Sessa G (2016) Multiple *Xanthomonas euvesicatoria* Type III Effectors Inhibit *flg22*-Triggered Immunity. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R> 29:651–660. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R>

- Porter BW, Chittoor JM, Yano M, et al (2003) Development and mapping of markers linked to the rice bacterial blight resistance gene Xa7. John Wiley & Sons, Ltd
- Potnis N, Minsavage G, Smith JK, et al (2012) Avirulence Proteins AvrBs7 from *Xanthomonas gardneri* and AvrBs1.1 from *Xanthomonas euvesicatoria* Contribute to a Novel Gene-for-Gene Interaction in Pepper. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0205> 25:307–320. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0205>
- Pruitt RN, Schwessinger B, Joe A, et al (2015) The rice immune receptor XA21 recognizes a tyrosine-sulfated protein from a Gram-negative bacterium. *Sci Adv* 1:e1500245. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500245>
- Raborn RT, Brendel VP (2019) Using RAMPAGE to Identify and Annotate Promoters in Insect Genomes. *Methods Mol Biol* 1858:99–116. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8775-7_9
- Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020) Genome assembly and characterization of a complex zfBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zfBED-NLR gene-containing Dis Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678. <https://doi.org/10.1101/675678>
- Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516>
- Ri CH, Phe S, Fere Nc E RM, et al (2018) Recent advances in the understanding of *Xanthomonas citri* ssp. *citri* pathogenesis and citrus canker disease management. *Mol Plant Pathol* 19:1302–1318. <https://doi.org/10.1111/MPP.12638>
- Roeschlin RA, Uviedo F, García L, 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. <https://doi.org/10.1111/mpp.12844>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Ronald PC, Staskawicz BJ (1988) The avirulence gene *avrBs1* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* encodes a 50-kD protein. *Mol Plant Microbe Interact* 1:191–198. <https://doi.org/10.1094/MPMI-1-191>
- Roux F, Voisin D, Badet T, et al (2014) Resistance to phytopathogens e tutti quanti: Placing plant quantitative disease resistance on the map. *Mol Plant Pathol* 15:427–432. <https://doi.org/10.1111/MPP.12138>
- Ruh M, Briand M, Bonneau S, et al (2017) *Xanthomonas* adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. *BMC Genomics* 18:670. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4087-6>

- Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, et al (2003) Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theor Appl Genet* 106:794–803. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1088-9>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 91 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol* 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>
- Schorneck S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>
- Schorneck S, Minsavage G V., Stall RE, et al (2008) Characterization of AvrHah1, a novel AvrBs3-like effector from *Xanthomonas gardneri* with virulence and avirulence activity. *New Phytol* 179:546–556. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2008.02487.X>
- Serra H, Choi K, Zhao X, et al (2018) Interhomolog polymorphism shapes meiotic crossover within RAC1 and RPP13 disease resistance genes. *bioRxiv* 290478. <https://doi.org/10.1101/290478>
- Shivaprasad P V., Chen HM, Patel K, et al (2012) A microRNA superfamily regulates nucleotide binding site-leucine-rich repeats and other mRNAs. *Plant Cell* 24:859–874. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.095380>
- Song W-YY, Wang G-LL, Chen L-LL, et al (1995) A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, Xa21. *Science* (80-) 270:1804. <https://doi.org/10.1126/science.270.5243.1804>
- St.clair DA (2010) Quantitative disease resistance and quantitative resistance loci in breeding. *Annu Rev Phytopathol* 48:247–268. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081904>
- Stall RE, Jones JB, Minsavage G V. (2009) Durability of Resistance in Tomato and Pepper to *Xanthomonas* Causing Bacterial Spot. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081752> 47:265–284. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-080508-081752>
- Stam R, Scheikl D, Tellier A (2016) Pooled Enrichment Sequencing Identifies Diversity and Evolutionary Pressures at NLR Resistance Genes within a Wild Tomato Population. *Genome Biol Evol* 8:1501–1515. <https://doi.org/10.1093/GBE/EVW094>
- Stam R, Silva-Arias GA, Tellier A (2019) Subsets of NLR genes show differential signatures of adaptation during colonization of new habitats. *New Phytol* 224:367–379. <https://doi.org/10.1111/NPH.16017>
- Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

- Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>
- Sugio A, Yang B, Zhu T, White FF (2007) Two type III effector genes of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* control the induction of the host genes OsTFIIA γ 1 and OsTFX1 during bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:10720–10725. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701742104>
- Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) Xa26, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>
- Sun X, Yang Z, Wang S, Zhang Q (2003) Identification of a 47-kb DNA fragment containing Xa4, a locus for bacterial blight resistance in rice. *Theor Appl Genet* 106:683–687. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1117-8>
- Tai TH, Dahlbeck D, Clark ET, et al (1999) Expression of the Bs2 pepper gene confers resistance to bacterial spot disease in tomato. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:14153–14158. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.24.14153>
- Tian D, Wang J, Zeng 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>
- Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice. *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>
- Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger 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. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>
- Vallejos CE, Jones V, Stall RE, et al (2010) Characterization of two recessive genes controlling resistance to all races of bacterial spot in peppers. *Theor Appl Genet* 121:37–46. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1289-6>
- Van de Weyer AL, Monteiro F, Furzer OJ, et al (2019) A Species-Wide Inventory of NLR Genes and Alleles in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 178:1260-1272.e14. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.07.038>
- Vaughan DA, Lu BR, Tomooka N (2008) The evolving story of rice evolution. *Plant Sci* 174:394–408. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.01.016>
- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Triplett LR, Hummel AW, et al (2012) Transcription activator-like (TAL) effectors targeting OsSWEET genes enhance virulence on diverse rice (*Oryza sativa*) varieties when

expressed individually in a TAL effector-deficient strain of *Xanthomonas oryzae*. *New Phytol* 196:1197–1207. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2012.04367.X>

- Wang C, Chen S, Feng A, et al (2021) Xa7, a Small Orphan Gene Harboring Promoter Trap for AvrXa7, Leads to the Durable Resistance to *Xanthomonas oryzae* P.v. *oryzae*. *Rice* 14:48. <https://doi.org/10.1186/s12284-021-00490-z>
- Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor r protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>
- Wang L, Rinaldi FC, Singh P, et al (2017) TAL Effectors Drive Transcription Bidirectionally in Plants. *Mol Plant* 10:285–296. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.12.002>
- Wichmann G, Bergelson J (2004) Effector Genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* Promote Transmission and Enhance Other Fitness Traits in the Field. *Genetics* 166:693–706. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/166.2.693>
- Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x>
- Yang B, Sugio A, White FF (2005) Avoidance of host recognition by alterations in the repetitive and C-terminal regions of AvrXa7, a type III effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant-Microbe Interact* 18:142–149. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0142>
- Yang B, Sugio A, White FF (2006) Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10503–10508. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604088103>
- Yang B, Zhu W, Johnson LB, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.170286897>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Yu Y, Streubel J, Balzergue S, 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* 24:1102–1113. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254>
- Zhai J, Jeong DH, de Paoli E, et al (2011) MicroRNAs as master regulators of the plant NB-LRR defense gene family via the production of phased, trans-acting siRNAs. *Genes Dev* 25:2540–2553. <https://doi.org/10.1101/gad.177527.111>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>

- Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>
- Zhang Y, Wang J, Pan J, et al (2009) Identification and molecular mapping of the rice bacterial blight resistance gene allelic to Xa7 from an elite restorer line Zhenhui 084. *Eur J Plant Pathol* 125:235–244. <https://doi.org/10.1007/S10658-009-9478-3/TABLES/4>
- Zhang Y, Xia R, Kuang H, Meyers BC (2016) The Diversification of Plant NBS-LRR Defense Genes Directs the Evolution of MicroRNAs That Target Them. *Mol Biol Evol* 33:2692–2705. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSW154>
- Zhou J, Peng Z, Long J, et al (2015) Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. *Plant J* 82:632–643. <https://doi.org/10.1111/tpj.12838>
- Zhou J, Yang B (2015) Host target genes of the *Xanthomonas oryzae* pv . *oryzae* type III effectors for bacterial blight in rice
- Zhu S, Li Y, Vossen JH, et al (2012) Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Res* 21:89–99. <https://doi.org/10.1007/s11248-011-9510-1>
- Zou HS, Zhao WX, Zhang XF, et al (2010) Identification of an avirulence gene, *avrxa5*, from the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Sci China Life Sci* 2010 53:1440–1449. <https://doi.org/10.1007/S11427-010-4109-Y>

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Biologie des Interactions

École doctorale GAIA

Unité de recherche PHIM, IRD

Caractérisation de nouvelles sources de résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

Présentée par Marlène LACHAUX

Le 09 Mars 2022

Sous la direction de Boris SZUREK
et Mathilde HUTIN

Devant le jury composé de

Mme Alia DELLAGI, Professeure, AgroParisTech Versailles

M. Roland KÖLLIKER, Directeur de recherche, Agroscope Zürich

Mme Claire Neema, Professeure, L'Institut Agro Montpellier

M. Nicolas CHEN, Chargé de recherche, Agrocampus Ouest Angers

Mme Mathilde HUTIN, Chargée de recherche, IRD Montpellier

M. Boris SZUREK, Directeur de recherche, IRD Montpellier

Mme Laurence ALBAR, Chargée de recherche, IRD Montpellier

Rapporteur

Rapporteur

Examinatrice

Examineur

Co-encadrante

Directeur de thèse

Invitée



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

Remerciements

Tout d'abord je souhaiterais remercier mes deux encadrants, Boris SZUREK et Mathilde HUTIN, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse. Cela fait maintenant plus de 3 ans que l'on se connaît, et au cours de ces dernières années j'ai beaucoup appris grâce à vous deux. **Boris**, merci de m'avoir pris sous ton aile dès mon stage de master 2, où je n'étais encore qu'une novice dans le monde de la science, et de m'avoir transmis ton savoir. Je te remercie du temps que tu m'as accordé et de ta bienveillance. **Mathilde**, avec toi une confiance mutuelle s'est instaurée petit à petit et je suis heureuse de voir comment les choses ont évolué entre nous. Je te remercie de m'avoir accompagné jusqu'ici, de m'avoir aidé tout au long de ce chemin, parfois semé d'embûches il faut le dire.

Ensuite, je remercie les membres de mon jury : Alia DELLAGI, Roland KÖLLIKER, Claire NEEMA, Nicolas CHEN et Laurence ALBAR, pour leur présence, leur temps et pour leur retour sur mon manuscrit.

Merci à tous les membres de mon équipe (XPLAIN) sans qui cette expérience n'aurait pas été la même : Florence, Lionel, Ralf, Sébastien; à mes copains de travail, qui pour certains sont devenus de vrais amis, d'avoir égayé mes moments de labo : Coline, Carlos, Carolina, Gabriel, Valentine, Dario, Senne, Laurent. Une petite pensée particulière à Leonor et Angeliki; jamais je n'aurai pensé en si peu de temps créer des liens aussi forts et garder ce lien même à distance et sur différents fuseaux horaires ! Merci pour tout le soutien que vous m'avez apporté pendant cette dernière année de thèse. Vous êtes merveilleuses, et je vous aime.

Merci à Clotilde, Cécile et Nathalie, vous êtes des femmes fantastiques, ne changez jamais. Ces moments café, accompagnés de petits gâteaux et de discussions, m'ont été d'un grand réconfort.

Merci à Mathias, à Julie, à Ndomassi, et à Alvaro pour m'avoir aidé dans mes analyses (bioinformatique, génétique, cartographie, ...), et pour les moments conviviaux passés ensemble.

Un merci à l'équipe ABIP/BRIO, merci à chacun d'entre vous (Gilles, Lionel, Pierre, Adrian, Eoghan, Ludivine, Nicolas, Isabelle) pour avoir partagé avec moi vos points de vue, perspectives de travail, et quelques verres aussi.

Merci à tous les doctorant.e.s avec qui j'ai passé ces 3-4 dernières années: Juliette, Lison, Fanni, Théo, Léo Paul, Anne-Sophie, Adrian, Eoghan; mais aussi aux autres gens du labo (ou pas) comme Fiona, Marie, Helena, Justine, et bien d'autres encore.

Merci à Sandrine F. de m'avoir pris sous ton aile lors de mon M2. Merci à Audrey V. pour tous les conseils que tu as pu me donner au cours de ces années. Merci à Morgane C. et à Nelly F. , qui ont apportés joie et bonheur à la fin de ma thèse. Morgane, mon double, merci de m'avoir rappelé que j'étais capable de tout. Nelly, je te souhaite plein de courage pour la fin de ta thèse, tu vas tout déchirer !

Je voudrais dire merci à toutes les personnes, encore présentes à l'IRD et celles qui ne le sont plus, qui m'ont sourit dans les couloirs, qui m'ont aidées dans mes travaux de recherche, toutes les personnes qui m'ont soutenues jusqu'au bout.

Merci à ma meilleure amie Jessy, qui même à distance était disponible H24, pour m'entendre raconter ma vie, râler, pleurer, etc. Merci de ton soutien sans faille. Comme dirait quelqu'un de

sûrement connu : "Une meilleure amie c'est une sœur que la vie a oublié de nous donner", alors même si j'en ai déjà 2, une 3e sœur n'a jamais été de refus; je t'aime.

Pour finir, je pense qu'il est essentiel de remercier ma famille, et sans vouloir trop sembler mélodramatique... vous êtes ma force au quotidien, mon soutien à toute épreuve, et je sais que je suis chanceuse de vous avoir à mes côtés. Merci d'avoir cru en moi jusqu'au bout et de m'avoir soutenue, je vous aime.

Acknowledgments

First of all I would like to thank my two supervisors, Boris SZUREK and Mathilde HUTIN, for giving me the opportunity to do this PhD. We have known each other for more than 3 years now, and during these last years I have learned a lot thanks to you both. **Boris**, thank you for taking me under your wing during my master 2 internship, when I was still a novice in the world of science, and for passing on your knowledge. I thank you for the time you gave me and for your kindness. **Mathilde**, with you a mutual trust has been established little by little and I am happy to see how things have evolved between us. I thank you for having accompanied me until now, for having helped me along this path, sometimes full of pitfalls it must be said.

Then, I thank the members of my jury: Alia DELLAGI, Roland KÖLLIKER, Claire NEEMA, Nicolas CHEN and Laurence ALBAR, for their presence, their time and for their feedback on my manuscript.

Thanks to all the members of my team (XPLAIN) without whom this experience would not have been the same: Florence, Lionel, Ralf, Sébastien; to my work mates, some of whom have become real friends, for having brightened up my lab moments: Coline, Carlos, Carolina, Gabriel, Valentine, Dario, Senne, Laurent.

A special thought to Leonor and Angeliki; I would never have thought in such a short time to create such strong links and to keep this link even at distance and on different time zones ! Thank you for all the support you have given me during this last year of my thesis. You are wonderful, and I love you.

Thanks to Clotilde, Cécile and Nathalie, you are fantastic women, never change. These coffee moments, accompanied by small cakes and discussions, were a great comfort to me.

Thanks to Mathias, Julie, Ndomassi, and Alvaro for helping me in my analyses (bioinformatics, genetics, cartography, ...), and for the convivial moments spent together.

Thanks to the ABIP/BRIO team, thanks to each of you (Gilles, Lionel, Pierre, Adrian, Eoghan, Ludivine, Nicolas, Isabelle) for sharing with me your points of view, work perspectives, and some drinks too.

Thanks to all the PhD students with whom I spent the last 3-4 years: Juliette, Lison, Fanni, Théo, Léo Paul, Anne-Sophie, Adrian, Eoghan; but also to the other people of the lab (or not) like Fiona, Marie, Helena, Justine, and many others.

Thanks to Sandrine F. for taking me under your wing during my M2. Thank you to Audrey V. for all the advice you gave me during these years. Thanks to Morgane C. and Nelly F. who brought joy and happiness at the end of my thesis. Morgane, my double, thank you for reminding me that I was capable of anything. Nelly, I wish you a lot of courage for the end of your thesis, you are going to tear it up!

I would like to say thank you to all the people, still present at IRD and those who are no longer, who smiled at me in the corridors, who helped me in my research work, all the people who supported me until the end.

Thank you to my best friend Jessy, who even from distance was available H24, to hear me tell my life story, to grumble, to cry, etc. Thank you for your unfailing support. As someone famous would

say: "A best friend is a sister that life forgot to give us", so even if I already have 2, a 3rd sister was never a bad thing; I love you.

Finally, I think it is essential to thank my family, and without wanting to sound too melodramatic... you are my daily strength, my support at all times, and I know I am lucky to have you by my side. Thank you for believing in me until the end and for supporting me, I love you.

Résumé

La bactériose vasculaire du riz, causée par la bactérie à gram-négatif *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), est une des maladies les plus dévastatrices des cultures de riz en Afrique de l'Ouest et en Asie. Grâce à son système de sécrétion de type III, *Xoo* injecte ses effecteurs de type TAL ("Transcription Activator-Like") au sein de la cellule végétale hôte. Grâce à leurs signaux de localisation nucléaire (NLS), les TALE sont ensuite importés au noyau où ils ont la capacité de se fixer, par le biais de leur région centrale composée de répétitions en tandem, au promoteur d'un gène hôte au niveau d'une séquence appelée EBE (pour "Effector Binding Element"), et d'initier la transcription via leur domaine d'activation (AD). *Xoo* est ainsi capable de moduler l'expression des gènes de la plante en détournant sa machinerie transcriptionnelle et d'induire des gènes dits de sensibilité (*S*) qui favorisent le développement de la bactérie et donc de la maladie. Dans certains cas, les TALE peuvent activer des gènes dits exécuteur (*E*) dont l'expression entraîne des réactions de défenses de la plante et provoque la résistance. Des analyses de diversité génétique ont montré que *Xoo* comprend deux lignées correspondant aux souches Africaines et Asiatiques. Elles se distinguent notamment par le nombre de gènes *tal* qu'elles possèdent, mais aussi par le type de résistance qu'elles élicitent. De fait, aucune des races identifiées en Afrique n'a été retrouvée en Asie.

L'objectif de cette thèse était d'identifier des sources de résistance chez le riz afin d'apporter de nouvelles stratégies de contrôle de la bactériose vasculaire du riz en Afrique. Des analyses préliminaires avaient permis de mettre en évidence par une approche de gain-de-fonction, plusieurs TALE de la souche Malienne MAI1 ayant une activité potentielle d'avirulence sur les variétés de riz IR64, CT13432 et FKR47N. Afin de confirmer ces résultats, une approche par perte-de-fonction a été entreprise, consistant à cribler une banque de mutants BAI3 Δ *tal* générés dans la souche Burkinabè BAI3, dont le TALome (répertoire de gènes *tal*) est très proche de celui de MAI1, sur chacune des trois variétés résistantes. Ces travaux ont permis de valider le rôle d'avirulence de TalD et TalI sur les variétés IR64 et CT13432, respectivement. Il a également été démontré que la résistance de CT13432 aux souches MAI1 et BAI3 résultait de la combinaison de deux mécanismes de résistance, l'un reposant sur l'induction, médiée par TalI, d'un gène exécuteur encore inconnu, et l'autre sur un allèle du gène de résistance *Xa1*. Dans un second temps, afin d'approfondir nos connaissances sur la résistance conférée par IR64 aux souches Africaines de *Xoo*, le criblage d'une population de lignées recombinantes de génération F₁₁, provenant du croisement entre la variété résistante IR64 et la variété sensible Azucena, a été mené. Cette étude a permis de confirmer deux QTL, *qABB-7* et *qABB-11*, préalablement rapportés dans une autre étude, et d'identifier quatre nouveaux QTL de résistance aux souches Africaines de *Xoo*. Pour finir, des analyses de type RNAseq ont été réalisées sur la variété résistante IR64 et la variété sensible Nipponbare, dont les génomes séquencés sont disponibles, afin de caractériser leur transcriptome en réponse à des souches Africaines de *Xoo*. L'activité d'avirulence de TalD chez IR64 ayant été démontrée, une comparaison de l'expression différentielle des gènes induits par MAI1 et BAI3 avec le mutant BAI3 Δ *talD* a été effectuée, permettant d'identifier de potentiels gènes *E* candidats expliquant la résistance TalD-dépendante de IR64. Ces travaux représentent une première étape dans le développement de nouvelles stratégies basées sur le déploiement de sources de résistance durables afin de lutter contre la bactériose vasculaire du riz en Afrique.

Abstract

Bacterial Leaf Blight (BLB), caused by the gram-negative bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), is one of the most devastating diseases of rice in West Africa and Asia. *Xoo* injects through its type-III secretion system a full cocktail of TAL ("Transcription Activator-Like") effectors into the host plant cell. By means of their nuclear localization signals (NLS) TALEs are next imported into the host nucleus where they bind through central tandem repeats to host promoter targets at a sequence called EBE ("Effector Binding Element"), with the final aim of initiating gene transcription thanks to their activation domain (AD). *Xoo* is thus able to modulate the expression of plant genes by hijacking the plant transcriptional machinery and induce so-called susceptibility (*S*) genes that favor the development of the bacterium and disease consequently. In some cases, TALEs can activate so-called executor (*E*) genes whose expression leads to plant defense reactions and results in resistance. Genetic diversity analyses have shown that *Xoo* is comprised of two lineages corresponding to strains from Africa for one and Asian strains for the other. African and Asian *Xoo* differ in their number of *tal* genes, but also in the type of resistance they elicit. Noteworthy, none of the races identified in Africa have been found in Asia.

The objective of this thesis was to identify sources of resistance in rice in order to provide new strategies for the control of BLB in Africa. In a gain-of-function approach, preliminary analyses identified several TALEs of the Malian strain MAI1 with potential avirulence activity on the rice varieties IR64, CT13432 and FKR47N. To further confirm these results, a loss-of-function approach was undertaken, consisting in the inoculation of a library of BAI3 Δ *tal* mutants deriving from the *Xoo* Burkinabe strain BAI3, whose TALome (*tal* genes repertoire) is very similar to that of MAI1, on each of the three resistant varieties. This work validated the avirulence role of TalD and TalI on the matching rice varieties IR64 and CT13432, respectively. We also showed that the resistance exhibited by CT13432 against MAI1 and BAI3 results of the combination of two resistance mechanisms, one based on the TalI-mediated induction of an as yet unknown executor gene, and the other on an allele of the *Xa1* resistance gene. In a second step, in order to deepen our knowledge on the resistance conferred by IR64 to African *Xoo* strains, the screening of a population of recombinant inbred lines of F₁₁ generation, resulting from the cross between the resistant variety IR64 and the susceptible variety Azucena, was conducted. This study confirmed two QTL, *qABB-7* and *qABB-11*, previously reported in another study, and also identified four new QTL of resistance against African *Xoo* strains. Finally, RNAseq analyses were performed on the resistant variety IR64 and the susceptible variety Nipponbare, which genomes are sequenced, to characterize their transcriptome in response to African *Xoo*. The avirulence activity of TalD in IR64 being demonstrated, a comparison of the differential expression of genes induced by MAI1 and BAI3 with the BAI3 Δ *talD* mutant was performed, allowing the identification of potential candidate *E*-genes induced by TalD in IR64. This work represents a first step in the development of new strategies based on the deployment of sustainable sources of resistance to control BLB in Africa.

Table des figures

Figure 1. Modèle en Zig-Zag de coévolution des gènes de résistance de plantes et des effecteurs d'agents pathogènes.....	v
Figure 2. Reconnaissance des bactéries par les PRRs (Plant Pattern-Recognition Receptors).....	vi
Figure 3 . Structures des récepteurs NB-LRRs chez les plantes.....	vii
Figure 4. Deux modèles de liaison ATP/ADP des NB-LRRs chez les plantes.....	vii
Figure 5. Trois modèles de reconnaissance des effecteurs par les NB-LRRs des plantes.....	viii
Figure 6. Analyse par "single marker regression" (SMR) d'un caractère hypothétique dans une population F ₂ simulée de 100 individus.....	ix
Figure 7. Avantage de l'analyse "simple interval mapping" (SIM) par rapport au SMR.....	x
Figure 8. Production et superficie mondiales de riz paddy entre 2009 et 2018.....	xi
Figure 9. Production et importation du riz en Afrique de l'ouest.....	xi
Figure 10. Schéma de l'origine du riz domestiqué d'après (Civan et al. 2015).....	xii
Figure 11. Les structures de surface des bactéries participant à leur pouvoir pathogène.....	xiii
Figure 12. Représentation schématique d'un système de sécrétion de type III (SST3) présent chez les bactéries phytopathogènes (Buttner and He 2009).....	xiv
Figure 13. Représentation schématique des systèmes de sécrétions présents chez <i>Xanthomonas</i> spp. (Buttner and Bonas 2009).....	xv
Figure 14. Structure type d'un effecteur TAL de <i>Xanthomonas</i>	xv
Figure 15. Modèle de la spécificité de l'interaction de l'ADN-cible et des TALE.....	xvi
Figure 16. Effecteurs TAL de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> en interaction avec la cellule végétale..	xviii
Figure 17. Gènes OsSWEET du riz répartis en cinq clades en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre.....	xix
Figure 18. Convergence fonctionnelle des effecteurs bactériens TAL dans différents pathosystèmes et leurs cibles végétales.....	xx
Figure 19. Symptômes typiques provoquées par Xoo et Xoc sur le riz, et leur localisation cellulaire lors de l'infection.....	xxii
Figure 20. "Minimum spanning tree" d'une collection mondiale de <i>Xanthomonas oryzae</i>	xxiii
Figure 21. Représentation et alignement des séquences en RVD des TALE des souches Africaines MAI1, BAI3 et CFBP1947 de Xoo.....	xxiv
Figure 22. Cartographie fine du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Wang et al. 2021).....	lxxxix
Figure 23. Complémentation fonctionnelle du gène candidat <i>Xa7</i> . D'après (Wang et al. 2021).....	lxxxiv
Figure 24. Clonage positionnel du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Chen et al. 2021).....	lxxxv
Figure 25. Cartographie fine et identification du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Luo et al. 2021).....	lxxxvi
Figure 26. Mécanismes d'évolution des effecteurs TAL. D'après (Perez-Quintero and Szurek 2019)..	lxxxvi
Figure 27. Recombinaison de RVD entre les effecteurs TAL des souches MAI1 et BAI3. D'après (Tran et al. 2018).....	lxxxvii
Figure 28. Les différents profils TAL-RFLP identifiés au sein de la collection CIX de l'IRD. D'après (Diallo et al. in prep).....	lxxxviii

Article 1

Figure 1. BAI3 Δ talD loses avirulence on IR64 but BAI3 Δ talI and BAI3 Δ talF do not on CT13432 and FKR47N.....	xxviii
Figure 2. The resistance of CT13432 and FKR47N against African Xoo is largely suppressed by a truncTALE.....	xxix
Figure 3. The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of Xa1.....	xxx
Figure 4. Suppression of Xa1-like resistance unmasks TalI avirulence activity in the rice variety CT13432.....	xxxii
Fig. S1 Western-blot analysis of PXO99A Xoo transformant total protein extracts using an anti-TALE antibody.....	xxxiii
Figure S2. Molecular characterization of a library of BAI3 Δ tal mutant strains.....	xxxiii
Figure S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with BAI3 Δ talI and BAI3 Δ talF mutants.....	xxxiv
Figure S4. The tal2h truncTALE reveals Xa1-like resistance against the Xoo strain BAI3 in several rice varieties.....	xxxv
Figure S5. Western-blot analysis of Xoo total protein extracts using an anti-TALE antibody.....	xxxv

Article 2

Figure 1. Lesion lengths distribution in the F11 population following inoculation with African and Asian strains of Xoo.....	xli
Figure 2. Density curve of the lesion lengths of the F11 population following inoculation with African and Asian Xoo strains.....	xlii
Figure 3. RVD sequences comparison of the TALome of Xoo strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3....	xliv
Figure 4. Linkage of an avirulent TALE to the QTL on chromosome 11 conferring resistance to African Xoo strains.....	xlvi
Figure 5. Evaluation of the resistance of IR64 upon inoculation of a set of African Xoo strains displaying diverse talD allelic variants.....	xlvii
Figure 6. Fine mapping of the QTL interval on chromosome 11.....	xlix
Figure S1. Graphic representation of the QTL peaks revealed by the inoculation of MAI1, BAI3 and PXO99A.....	l
Figure S2. Synteny of chromosomes 7 and 11 between Azucena and IR64.....	li
Figure S3. Amino-acid alignment of the four candidate genes in the overlapped region.....	lii

Article 3

Figure 1. Phenotypic characterization of TalD avirulence factor on the IR64 rice variety.....	lxvii
Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries.....	lxviii
Figure 3. Differential gene expression of OsSWEET14 in Nipponbare and IR64 rice varieties.....	lxix

Figure 4. Venn diagram of differential expressed genes in IR64 and Nipponbare, upon the inoculation of MAI1, BAI3 and the BAI3 Δ talD(EV) mutant strains.....lxx

Figure S1. Western blot of total protein extracts of Xoo using an anti-TALE polyclonal antibody.....lxxvi

Figure S2. Induction of the susceptibility (S) gene OsSWEET14 in the RNA samples.....lxxvii

Figure S3. Up- and down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in Nipponbare.....lxxviii

Figure S4. Down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in IR64.....lxxix

Figure S5. Clustal Omega protein alignment of OsSPL6 protein.....lxxx

Table des tableaux

Tableau 1. Modèle de l'interaction "gène-pour-gène", selon Flor (1955).....	vi
Tableau 2. Nombre de gènes SWEET au sein de certaines espèces du règne des Plantae.....	xvii
Tableau 3. Races de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> Africaines sur 12 lignées de riz quasi-isogéniques (NILs) contenant un seul gène de résistance dans le fond génétique IR24.....	xxi
Tableau 4. Gènes de résistance à Xoo (R et E) connus à ce jour.....	xxvi
Tableau 5. Gènes d'avirulence et gènes de résistance au sein du genre <i>Xanthomonas</i> chez différents pathosystèmes.....	lxxxiii

Article 1

Table 1. Four African TALEs mediate resistance when expressed in PXO99A on resistant varieties. .	xxvii
Table S1. Rice accessions screened for resistance to African Xoo strains MAI1, BAI3 and susceptibility to PXO99A.....	xxxvii
Table S2. Prevalence of Xa1-like activity in rice accessions resistant to African Xoo strains MAI1 and BAI3.....	xxxviii
Table S3. List of primers used in this study.....	xxxviii
Table S4. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	xxxix

Article 2

Table 1. Lesion lengths induced by African Xoo on recombinant inbred lines of the F ₁₁ generation and their parents.....	xl
Table 2. List of QTL revealed by the inoculation of African and Asian Xoo strains on the F ₁₁ IR64 x Azucena population.....	xlili
Table 3. Lesion lengths induced by African Xoo on recombinant inbred lines of the F ₃ generation and their parents.....	xlvii
Table S1. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	liii
Table S2. List of genes located in the QTL intervals on chromosomes 7 and 11, in IR64 and their orthologs in Azucena rice variety.....	lxvi

Article 3

Table 1. Common differentially expressed genes induced by BAI3 and MAI1.....	lxxi
Table 2. Genes in the QTL interval of qABB-11 with a binding site predicted for TalD.....	lxxii
Table 3. Differentially expressed genes located in the QTLs in IR64 revealed by MAI1 and BAI3.....	lxxiii
Table 4. List of candidate genes differentially expressed between BAI3 and mock conditions in IR64, located in <i>qABB-11</i>	lxxiv
Table 5. List of candidate genes involved in MAI1 and/or BAI3 resistance in IR64.....	lxxv
Table S1. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	lxxxi

Table des matières

Remerciements.....	1
Acknowledgments.....	3
Résumé.....	5
Introduction générale.....	10
I. Généralités sur les interactions plantes - micro-organismes.....	10
1. Les différents types d'interactions.....	10
2. Les systèmes de défense de la plante.....	10
a) Les défenses constitutives.....	10
b) Les défenses induites : un système immunitaire inné à deux niveaux.....	11
i. Les défenses non-spécifiques : Pattern-Triggered Immunity "PTI".....	11
ii. Les défenses spécifiques: Effector-Triggered Immunity "ETI".....	14
3. Transduction du signal éliciteur.....	20
a) L'influx de Ca ²⁺	20
b) La production de ROS.....	21
c) Les MAP kinases.....	21
d) Les hormones végétales.....	22
4. Contournement de la résistance (ETS).....	24
II. Cartographie génétique et localisation de locus à effet quantitatif (QTL).....	25
1. Généralités sur la cartographie génétique.....	25
2. La détection de QTL.....	26
3. Les modèles d'analyses.....	28
III. Le riz.....	29
1. L'importance du riz dans le monde: une céréale majeure dans l'alimentation.....	29
2. Le genre <i>Oryza</i>	30
a) Généralités.....	30
b) Caractéristique des deux espèces cultivées.....	31
3. Les ressources génétiques et génomiques disponibles.....	32
a) Ressources génétiques.....	33
b) Ressources génomiques.....	36
c) Amélioration variétale.....	38
4. Les menaces des cultures de riz.....	40
a) Stress abiotiques.....	40
b) Stress biotiques.....	41
IV. Le genre <i>Xanthomonas</i>	42
1. Généralités.....	42
2. Génomique et <i>Xanthomonas</i>	42

3. Les déterminants du pouvoir pathogène.....	45
a) Les structures de surface des bactéries.....	45
b) Les systèmes de sécrétion.....	46
i. Le système de sécrétion de type 3.....	46
ii. Les autres systèmes de sécrétion.....	47
4. Les effecteurs TAL et non-TAL.....	48
V. L'interaction TALE-hôte.....	49
1. Structure des TALE.....	49
2. Mécanisme de reconnaissance TALE-ADN.....	50
3. La sensibilité à travers les TALE.....	51
a) Les transporteurs membranaires.....	51
b) Les facteurs de transcription.....	52
4. L'immunité et les TALE.....	54
a) La résistance par perte de sensibilité : contournement de l'ETS.....	54
b) Induction des gènes exécuteurs (<i>E</i>).....	54
i. Le premier gène exécuteur identifié.....	55
ii. Les autres gènes exécuteurs connus.....	55
c) <i>Xa1/Xo1</i> et <i>Bs4C</i> : des exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant.....	57
5. Les différents cas de contournement de la résistance par <i>Xoo</i>	58
a) Contournement de la résistance <i>Xa4</i> : expansion de la race 2.....	58
b) Contournement de la résistance <i>Xa7</i> : expansion de la race 9b.....	59
c) Contournement de la résistance <i>Xa1/Xo1</i> : les TALE interférant/tronqués.....	60
6. Les applications des TALE en science.....	61
a) Les outils bioinformatiques développés.....	61
i. Prédiction des cibles de TALE.....	61
ii. Design des TALE.....	61
iii. La suite QueTAL.....	62
b) TALE et édition de génome.....	63
VI. <i>Xanthomonas oryzae</i>	64
1. L'espèce <i>X. oryzae</i>	64
a) Origines et répartitions.....	64
b) Diversité de <i>X. oryzae</i>	66
2. <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> , agent de la bactériose vasculaire du riz.....	67
3. Les souches Africaines de <i>Xoo</i> vs les souches Asiatiques de <i>Xoo</i>	67
a) Les différences générales entre les souches de <i>Xoo</i> Africaines et Asiatiques.....	67
b) Déclenchement de la résistance : des cibles diverses.....	68
Projet de thèse.....	70

Chapitre 1 : Identification d'effecteurs TAL ayant une activité d'avirulence dans les souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	72
Chapitre 2 : Identification de QTL majeurs et mineurs conférant la résistance aux souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> chez le riz (<i>Oryza sativa</i> ssp. <i>indica</i>).....	104
Chapitre 3 : Utilisation d'une approche de RNA-seq pour identifier des gènes exécuteurs candidats contre les souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	123
Discussion générale.....	145
I. Le rôle central des effecteurs de type TAL dans le genre <i>Xanthomonas</i>	145
II. Quelle est la meilleure approche pour identifier des gènes de résistance à <i>Xanthomonas</i> ?.....	146
III. La course aux armements: quelles sont les stratégies évolutives mises en place par la plante et la bactérie pour survivre ?.....	149
a) Evolution des gènes de résistance chez les plantes : les NB-LRR.....	149
b) Evolution des gènes <i>tal</i> chez <i>Xanthomonas</i>	150
IV. Quels sont les mécanismes qui régissent l'évolution des TALomes ?.....	151
V. Que nous reste-t-il à découvrir encore sur les TALE ?.....	152
VI. Quelles sont les stratégies pour maintenir la résistance des cultures ?.....	153
Conclusions & Perspectives.....	155
Annexes.....	157
Références bibliographiques.....	160

Introduction générale

I. Généralités sur les interactions plantes - micro-organismes

1. Les différents types d'interactions

Tout comme les êtres humains, les plantes ne font pas exception à cette règle universelle qui est de partager leur environnement avec une myriade de micro-organismes. Souvent invisibles à l'œil nu, les interactions entre les plantes et les micro-organismes se produisent de différentes manières et à différents niveaux. Il en résulte plusieurs types d'interactions : neutres, mutuellement bénéfiques ou nuisibles, dont les micro-organismes respectifs sont communément appelés commensaux, symbiotes et pathogènes. Lors de ces interactions les plantes servent de niche écologique pour les micro-organismes qui peuvent coloniser les espaces apoplastiques, la surface de la plante ou encore les zones adjacentes à la surface de la plante, comme par exemple la rhizosphère (sol à proximité des racines). En plus d'une niche écologique et d'une source future de nutriments qui seront disponibles à la mort de la plante, de nombreuses plantes libèrent des composés qui attirent et nourrissent les micro-organismes associés. Ces derniers peuvent, dans certains cas, à leur tour sécréter des composés qui favorisent la croissance de la plante et/ou la rendre plus résistante aux stress biotiques et abiotiques (Schirawski and Perlin 2018).

Différents termes sont utilisés pour catégoriser les relations trophiques entre les plantes et les micro-organismes. Cette qualification implique la notion de transfert de ressources, comme les nutriments, d'un partenaire à l'autre. Lorsque les plantes restent vivantes pendant les échanges de nutriments, on parle d'interactions "biotrophes". Au contraire, lorsque le micro-organisme tue les cellules et les tissus végétaux pour se nourrir des restes, ce qui est caractéristique de plusieurs phytopathogènes, on parle d'interactions "nécrotrophes". Dans la pratique, sont reconnus de nombreux états intermédiaires caractérisés par des transitions temporelles et/ou spatiales entre la biotrophie et la nécrotrophie; ces relations sont qualifiées d' "hémibiotrophes" (Vleeshouwers and Oliver 2014). Lorsque les micro-organismes sont simplement capables de se nourrir de restes de plantes mortes sans jouer aucun rôle dans la mort, on parle d'interactions "saprotrophes" (Lewis 1973).

2. Les systèmes de défense de la plante

a) Les défenses constitutives

Au fil de l'évolution, les plantes ont développé diverses stratégies pour faire face aux agents pathogènes. Tout d'abord les micro-organismes phytopathogènes sont confrontés aux défenses constitutives de la plante qui sont d'ordre structural et biochimique. Ces dernières ne nécessitent pas

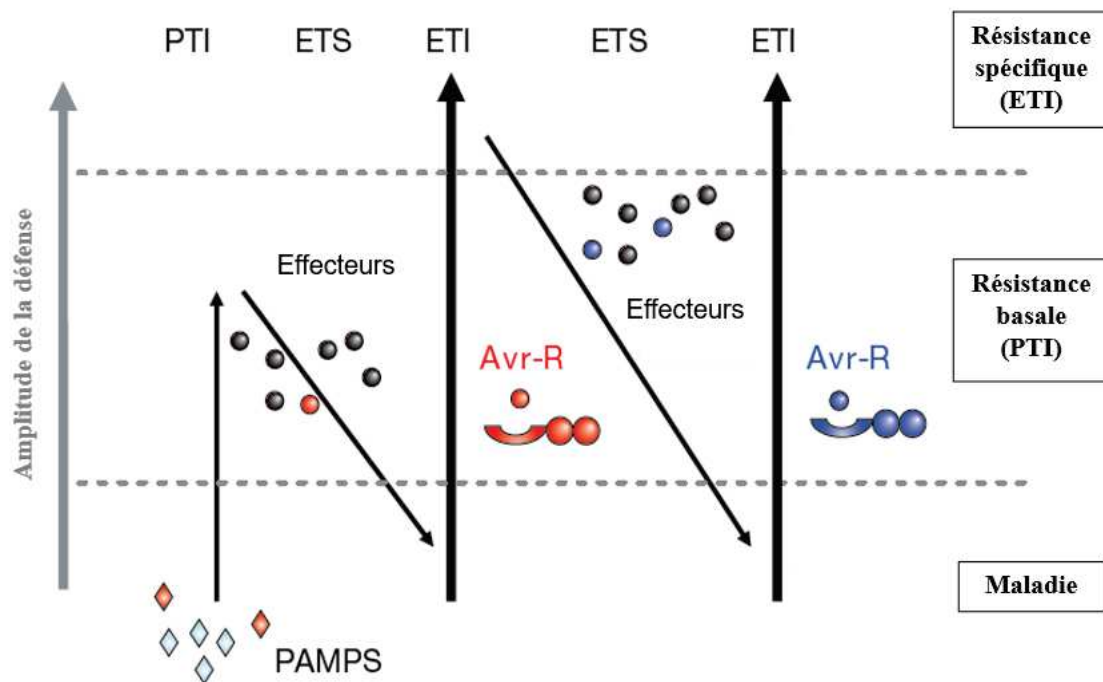


Figure 1. Modèle en Zig-Zag de coévolution des gènes de résistance de plantes et des effecteurs d'agents pathogènes.

En présence d'éliciteurs généraux de type PAMP, la plante met en place la PTI (Immunité médiée par les PAMPs), une réponse de défense non-spécifique et d'une faible amplitude. Si le pathogène injecte des effecteurs pour contourner cette voie de défense, la plante devient sensible, c'est l'ETS (Sensibilité induite par les effecteurs). Lorsque la plante possède un gène de résistance (*R*) codant pour une protéine capable de reconnaître spécifiquement un de ces effecteurs, une résistance d'une amplitude importante est mise en place par la plante : c'est l'ETI. L'effecteur reconnu est alors appelé protéine d'avirulence (*Avr*). Au fil du temps le pathogène évolue, et acquiert de nouveaux effecteurs, ce qui lui permet de déjouer les défenses spécifiques de la plante ; ce jusqu'à ce que de nouvelles protéines de résistance (*R*) apparaissent. Schéma adapté de Jones et Dangl (2006).

la détection du pathogène pour être mises en place. L'épiderme des plantes, qui est la première surface rencontrée par les micro-organismes, est généralement constituée d'une assise de cellules vivantes dont la paroi externe est principalement composée de cutine et de cires qui forment la cuticule, permettant de rendre l'épiderme plus ou moins imperméable. La paroi cellulaire végétale qui se compose de microfibrilles de cellulose, de pectine, d'hémicelluloses, de protéines et, dans certains cas, de lignine, est un autre composant de l'épiderme, qui avec la cuticule forment une première ligne de défense contre les attaques des pathogènes en limitant leur entrée dans les tissus végétaux. D'autre part, les plantes produisent aussi des métabolites secondaires aux propriétés antimicrobiennes parmi lesquelles on trouve les phytoanticipines. Ces composés sont produits dans le cadre de la croissance et du développement des plantes de façon constitutive et sont généralement stockés dans des organes ou des tissus spécialisés (e.g. les trichomes, les glandes oléifères ou les couches cellulaires épidermiques) (Lee et al. 2017).

b) Les défenses induites : un système immunitaire inné à deux niveaux

A la différence des défenses constitutives, la perception de l'agent pathogène par la plante est nécessaire à la mise en place des défenses induites. Deux situations sont possibles lors de la détection du pathogène. Premièrement, si l'agent pathogène est capable de se multiplier et d'entraîner le développement de la maladie, il est qualifié de virulent et la plante de sensible; ici on parle d'interaction compatible. Dans le cas contraire, lorsque la plante arrive à prévenir la colonisation par l'agent pathogène l'interaction est dite incompatible, et la plante est alors résistante. Deux types de réactions de défenses induites sont décrites à ce jour : i) les réponses de défense non-spécifiques (PTI pour "PAMP-Triggered Immunity", ou Immunité médiée par les PAMP), aussi appelée "réponses générales de défense", et ii) les réponses de défense spécifiques (ETI pour "Effector-Triggered Immunity", ou Immunité médiée par les Effecteurs). Le modèle dit "en Zig-Zag" illustre bien la dynamique évolutive sous-jacente à ces deux niveaux de résistance de la plante et aux éliciteurs microbiens (Figure 1, (Jones and Dangl 2006)).

i. Les défenses non-spécifiques : Pattern-Triggered Immunity "PTI"

Dans le cas de la résistance non-spécifique (PTI), la plante reconnaît des motifs moléculaires conservés, dérivés de l'agent pathogène appelés PAMP ("Pathogen-Associated Molecular Patterns"), tel que la flagelline (issue du flagelle bactérien), la chitine (présentes chez des champignons, insectes...) ou encore les lipopolysaccharides (LPS, composants de la membrane externe des bactéries à gram négatif) (Jones and Dangl 2006; Dodds and Rathjen 2010). Comme les PAMP sont souvent dérivés de microbes non-pathogènes, ils sont préférentiellement appelés motifs moléculaires associés aux microbes (MAMP ou "Microbe-Associated Molecular Patterns").

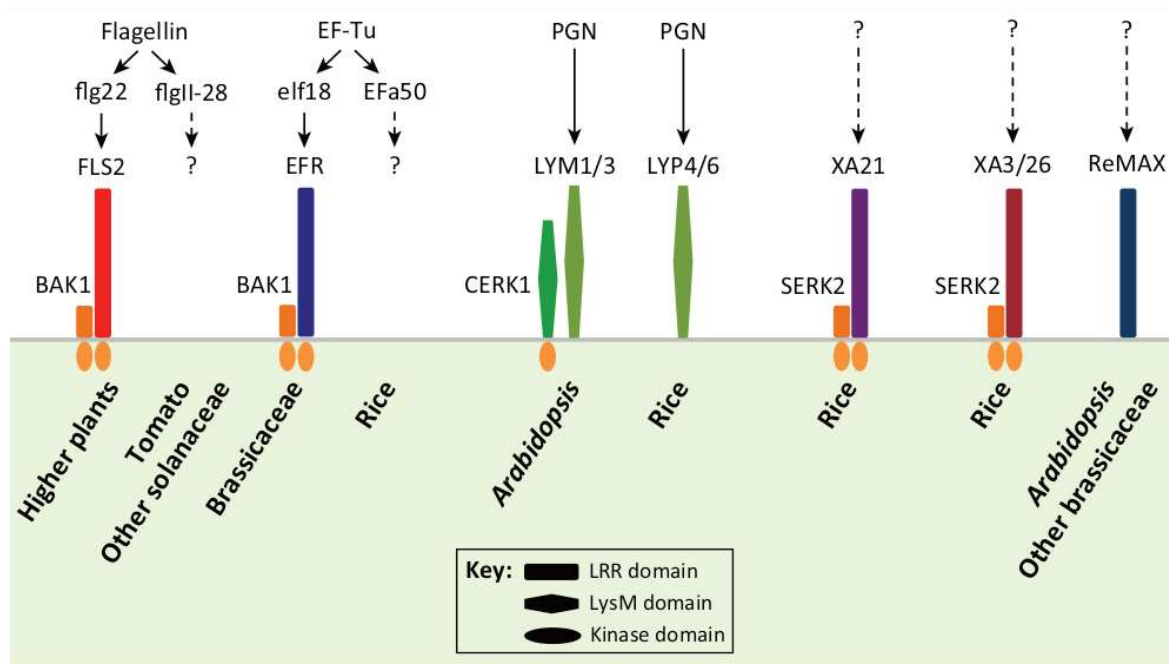


Figure 2. Reconnaissance des bactéries par les PRRs (Plant Pattern-Recognition Receptors).

Le récepteur kinase à domaine riche en leucine (RK-LRR, “Leucine-Rich Repeat Receptor Kinase”) FLS2 reconnaît la flagelline via l'épitope flg22. L'épitope flgII-28 est reconnu par la tomate et d'autres Solanacées via un PRR encore inconnu. Le RK-LRR EFR perçoit le facteur d'élongation Tu (EF-Tu) chez les Brassicacées au niveau de l'épitope elf18, un autre épitope reconnu chez le riz par un PRR non identifié. FLS2 et EFR interagissent avec le corécepteur RK (“Receptor Kinase”) BAK1 immédiatement après la reconnaissance de flg22 et elf18 respectivement. Les peptidoglycans (PGNs) sont reconnus chez *Arabidopsis* par les RLPs-LysM (“lysine motif receptor-like proteins”) LYM1 et LYM3, qui peuvent former un complexe avec la protéine RK-LysM CERK1. Chez le riz les récepteurs LysM impliqués sont LYP4 et LYP6. Toujours chez le riz, les RK-LRRs XA21 et XA3/26 interagissent avec la protéine RK-LRR OsSERK2 et confèrent la résistance à *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Le PAMP (“Pathogen-Associated Molecular Patterns”) reconnu par XA21 a été identifié récemment, il s'agit de la protéine RaxX (Pruitt et al., 2015). Le PAMP de *Xanthomonas* reconnu par le récepteur ReMAX chez *Arabidopsis* n'est pas identifié. Les flèches noires indiquent une liaison directe alors que les flèches en pointillé indiquent que la liaison directe n'a pas encore été démontrée ou que le PRR ou le PAMP n'a pas encore été identifié (Zipfel, 2014).

		Génotype de la plante	
		<i>R</i>	<i>r</i>
Génotype du pathogène	<i>Avr</i>	Interaction incompatible	Interaction compatible
	<i>avr</i>	Interaction compatible	Interaction compatible

Tableau 1. Modèle de l'interaction "gène-pour-gène", selon Flor (1955).

Lorsque le gène de résistance (*R*) de la plante est en présence du gène d'avirulence (*Avr*) correspondant chez le pathogène l'interaction est incompatible : la plante est résistante. Dans le cas des autres combinaisons l'interaction est compatible et la maladie se développe.

La plante reconnaît ainsi les MAMP à l'aide de récepteurs membranaires appelés PRR ("Pattern Recognition Receptors"). Ces récepteurs sont i) soit de type RK ("Receptor Kinase" ou Récepteur Kinase), comprenant en plus d'un domaine transmembranaire, un domaine kinase intracellulaire et un domaine récepteur extracellulaire de type LysM ("Lysine Motif") ou LRR ("Leucine Rich Repeat" ou domaine riche en leucine), ii) soit de type RLP ("Receptor Like Proteins") se composant des mêmes domaines que les RK à l'exception du domaine kinase cytoplasmique qui est absent (Figure 2, (Zipfel 2014).

Ces récepteurs sont également capables de détecter des motifs moléculaires associés à des dommages causés par les micro-organismes, les DAMP ("Damage-Associated Molecular Patterns"). Ces éliciteurs endogènes sont produits suite à l'action des enzymes du pathogène au cours du processus d'infection menant à la dégradation de la paroi cellulaire végétale ou de la cuticule (Hamann 2012; Yeats and Rose 2013; Serrano et al. 2014). La reconnaissance des DAMP déclenche également des réponses immunitaires non-spécifiques (PTI) (Bigeard et al. 2015).

- Perception des bactéries

La première paire PAMP/PRR identifiée chez une plante fut le récepteur RK-LRR FLS2 (Flagellin-Sensitive 2) d'*Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) qui reconnaît un peptide à la surface du flagelle bactérien de *Pseudomonas aeruginosa* nommé flg22 (Gómez-Gómez and Boller 2000; Bauer et al. 2001). Ce dernier est un épitope de 22 acides aminés (aa) conservés en N-terminal de la flagelline. La liaison de flg22 à FLS2 provoque l'hétérodimérisation de ce dernier avec BAK1 ("BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1-associated kinase 1") et leur activation réciproque est suivie par l'induction du système immunitaire (Figure 2, (Sun et al. 2013). La flagelline est reconnue par de nombreuses plantes et des orthologues fonctionnels de FLS2 ont été identifiés chez le tabac, le riz, la tomate et la vigne (Hann and Rathjen 2007; Robatzek et al. 2007; Takai et al. 2008; Trdá et al. 2014). La perception du facteur d'élongation bactérien EF-Tu par le récepteur RK-LRR EFR d'*A. thaliana* est une autre paire PAMP/PRR bien étudiée (Figure 2). Le récepteur EFR reconnaît directement l'épitope N-acétylé conservé elf18, provenant d'*Escherichia coli*, qui correspond aux 18 premiers acides aminés de EF-Tu (Kunze et al. 2004; Zipfel et al. 2006).

D'autres molécules appelées peptidoglycanes (PGN), qui constituent un des composés majeurs des parois cellulaires bactériennes, sont perçues par les plantes comme des PAMP. Différentes études suggèrent que la perception des PGN chez les plantes utilise un système de récepteurs multimériques comprenant des RLP-LysM se liant aux PGN et des RK-LysM transmettant le signal (Zipfel and Oldroyd 2017). Chez *Arabidopsis*, cette perception implique deux récepteurs RLP-LysM, AtLYM1 et AtLYM3, qui se lient spécifiquement aux PGN et également le récepteur RK-LysM CERK1, qui ne se lie pas aux PGN eux-mêmes (Willmann et al. 2011). Chez le riz la

perception des PGN implique les orthologues RLP-LysM OsLYP4 et OsLYP6 (Liu et al. 2012a) (Figure 2).

Par ailleurs, plusieurs potentiels PRR végétaux reconnaissant les bactéries ont été identifiés, mais leurs agonistes spécifiques restent inconnus. Il s'agit notamment du récepteur RK-LRR du riz XA3/XA26 qui assure la résistance à la bactérie *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Sun et al. 2004), et du récepteur RLP-LRR ReMAX/RLP1 d'*Arabidopsis*, qui confère la reconnaissance de l'énigmatique MAMP bactérien eMax partiellement purifié de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Jehle et al. 2013) (Figure 2). Depuis ces dernières années plusieurs gènes agissant en aval de la signalisation de défense médiée par Xa3/Xa26 ont été rapportés. Par exemple, *OsDR8* ("Oryza sativa defense-responsive gene8"), codant pour une enzyme responsable de la synthèse de la thiamine, joue un rôle positif dans la voie de défense initiée par Xa3/Xa26 (Wang et al. 2006). Les facteurs de transcription WRKY13 et WRKY45-2 sont aussi positivement impliqués dans la résistance médiée par Xa3/Xa26 en réprimant ou en activant l'expression d'autres gènes (Qiu et al. 2007; Tao et al. 2009; Xiao et al. 2013; Cheng et al. 2015). C3H12, codant pour une protéine se liant aux acides nucléiques, ainsi que *OsSERK2* ("Oryza sativa somatic embryogenesis receptor kinase2"), codant pour une kinase de type XA3/XA26, sont également nécessaires à la résistance médiée par Xa3/Xa26 (Deng et al. 2012b; Chen et al. 2014). Le gène *OsDR10*, quant à lui, influence négativement la résistance médiée par Xa3/Xa26 (Xiao et al. 2009).

- Perception des champignons et des virus

La chitine, constituant majeur de la paroi cellulaire des champignons, est reconnue par le récepteur RK-LysM CEBiP, initialement identifié chez le riz. Cette interaction induit l'homodimérisation du récepteur RK-LysM, et la formation d'un hétéro-complexe avec OsCERK1 (l'orthologue chez le riz de AtCERK1) (Shimizu et al. 2010; Hayafune et al. 2014). Chez le riz, les récepteurs RLP-LysM OsLYP4 et OsLYP6 sont autant impliqués dans la perception des PGN que de la chitine (Liu et al. 2012a).

Bien que les concepts d'immunité antivirale aient été initialement exclus du modèle en zigzag, des études récentes ont soulevé un thème commun dans les interactions plantes-virus. Les plantes peuvent également utiliser la PTI classique pour lutter contre les infections virales, de la même manière que pour les agents pathogènes non viraux (Kørner et al. 2013; Iriti and Varoni 2014; Niehl et al. 2016; Nicaise and Candresse 2017). L'immunité antivirale des plantes a été conceptuellement considérée comme du "silencing RNA", dans laquelle les ARN doubles brins viraux sont considérés comme des PAMP qui activent les protéines Dicers en tant que PRR; l'action des protéines Dicers

pouvant être supprimée par les effecteurs viraux (Moon and Park 2016; Calil and Fontes 2017). Plus récemment, de multiples études ont mis en évidence que l'arsenal de défense des plantes contre les virus impliquait des PRR transmembranaires comme dans la PTI classique (Yang et al. 2010; Liu et al. 2011a; Kørner et al. 2013; Zvereva et al. 2016; Nicaise and Candresse 2017; Kong et al. 2018).

- Perception des DAMP

En 2006, le peptide AtPep1 fut identifié comme un des DAMP déclenchant une réaction immunitaire chez *A. thaliana*. AtPep1 est un peptide de 23 aa qui dérive d'une molécule précurseur de 92 aa, nommée PROPEP1, appartenant à une famille multigénique qui code pour les propeptides PROPEP. L'expression de PROPEP1 est induite suite à une blessure, en réaction au méthyle jasmonate et à l'éthylène (Huffaker et al. 2006). AtPep1 est reconnu par deux récepteurs RK-LRR nommés PEPR1 et PEPR2 (Yamaguchi et al. 2006, 2010; Krol et al. 2010), ce qui entraîne l'activation de la transcription du gène de défense PDF1.2 appelé "defensin" et la synthèse d'H₂O₂, qui sont tous deux des composants de la réponse immunitaire innée (Huffaker et al. 2006).

Outre AtPep1, d'autres DAMP appartenant aux catégories des glucides, des lipides et des nucléotides peuvent être perçus par la plante comme molécule signal permettant d'induire le système immunitaire (Boutrot and Zipfel 2017).

- Dépôt de callose

La callose est un polymère de β -(1,3)-glucane amorphe et de poids moléculaire élevé. Outre son rôle dans la croissance et le développement normaux de la plante, il joue un rôle important dans la défense des plantes. Suite à la reconnaissance de PAMP, ou DAMP (Brown, Ian et al. 1998; Gómez-Gómez et al. 1999), une accumulation de callose est induite au site d'infection, au niveau des parois cellulaires. Appelées papilles, ces appositions de callose forment une barrière qui sert de matrice dans laquelle les composés antimicrobiens peuvent être déposés, ce qui permet de concentrer les défenses chimiques sur les sites cellulaires d'attaque. La chitine et le chitosan sont des exemples de PAMP puissants, provenant de parois cellulaires fongiques, induisant le dépôt de callose (Iriti and Faoro 2009).

ii. Les défenses spécifiques: Effector-Triggered Immunity "ETI"

- Définitions générales des acteurs de l'ETI

Le second niveau de résistance appelé ETI ("Effector-Triggered Immunity") décrit la reconnaissance par la plante de certaines protéines synthétisées par l'agent pathogène, appelées

effecteurs, qui sont délivrées dans la matrice extracellulaire ou dans la cellule végétale pour améliorer l'aptitude de l'agent pathogène en lui permettant d'outrepasser la PTI. Les plantes qui ne sont pas capables de détecter ces effecteurs sont sensibles à l'agent pathogène, ce qui donne lieu à une sensibilité déclenchée par les effecteurs (ETS, voir paragraphe 5). Au contraire, lorsque que les plantes peuvent reconnaître les effecteurs par le biais des protéines de résistance (protéines R) l'ETI se met en place (Bigéard et al. 2015). Ce mécanisme de reconnaissance repose sur le modèle d'interaction "**gène pour gène**" décrit par H.H. Flor (1955) de telle sorte que la résistance a lieu uniquement lorsque des plantes, contenant un gène de résistance *R* spécifique, sont infectées par une souche de l'agent pathogène portant le gène d'avirulence *Avr* correspondant (Tableau 1, (Flor 1971). En comparaison à la PTI, l'ETI est une réponse de défense amplifiée et accélérée qui se manifeste habituellement par une cascade de signalisation aboutissant à un "burst" oxydatif et qui se traduit par la mise en place de la réponse hypersensible ("Hypersensitive Response", ou HR) (Greenberg and Yao 2004; Jones and Dangl 2006). La HR permet le confinement du pathogène au site d'infection et ainsi d'éviter sa propagation (Dangl and Jones 2001; Jones and Dangl 2006).

- Les protéines R

Plusieurs classes de protéines R sont connus à ce jour chez les plantes, en outre, la catégorie des LRR extracellulaires (eLRR) qui comprend les protéines Cf de la tomate permettant la résistance au champignon pathogène *Cladosporium fulvum* qui provoque la maladie de la moisissure des feuilles de la tomate (*Solanum lycopersicum*) (Joosten and De Wit 1999; Rivas and Thomas 2005; Stergiopoulos and De Wit 2009). Les protéines de résistance Cf9, Cf4, Cf5 et Cf2 sont des protéines RLP qui perçoivent respectivement les effecteurs Avr9, Avr4, Avr5 et Avr2 (Thomas et al. 1998; Rivas and Thomas 2005). Il a longtemps été suggéré que les RLP, qui contrairement aux RLK ne possèdent pas de domaine de signalisation intracellulaire, nécessiteraient d'une interaction avec une protéine kinase pour initier la signalisation (Jones et al. 1994; Joosten and De Wit 1999; Liebrand et al. 2014). En 2015, Postma et ses collaborateurs ont démontré que le récepteur extracellulaire Cf4, en association avec la protéine RLK-LRR *SISOBIR1* ("SUPPRESSOR OF BIR1-1"), perçoit Avr4 au niveau de la membrane plasmique des cellules hôtes, induisant par la suite l'endocytose des deux récepteurs dépendamment de BAK1/SERK3 ("BRI1-ASSOCIATED KINASE 1" / "SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASE 3"). (Postma et al. 2016). De la même façon que Cf4, Cf9 nécessite la reconnaissance, directe ou indirecte, de Avr9 pour induire son internalisation via BAK1/SERK3. De plus, les deux RLP, Cf4 et Cf9, formeraient chacun un hétérodimère avec la protéine SERK1 lors de la perception de leur effecteur d'avirulence respectif (Postma et al. 2016).

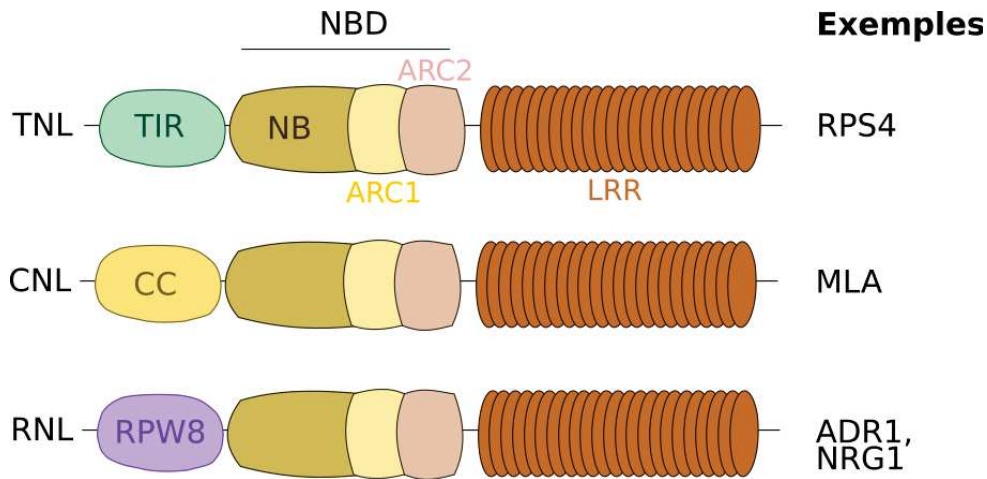


Figure 3 . Structures des récepteurs NB-LRRs chez les plantes.

Architectures des domaines de NB-LRRs de plantes classées en trois groupes contenant un domaine TIR, CC ou CC similaire à RPW8 fusionné aux domaines NBD et LRR. Le NBD peut être encore divisé en sous-domaines NB, ARC1 et ARC2. CC, coiled-coil; LRR, leucine-rich repeat; NBD, nucleotide-binding domain; RPW8, resistance to powdery mildew 8; TIR, Toll/interleukin-1 receptor/R protein. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

Echange ATP/ADP

Commutation d'équilibre

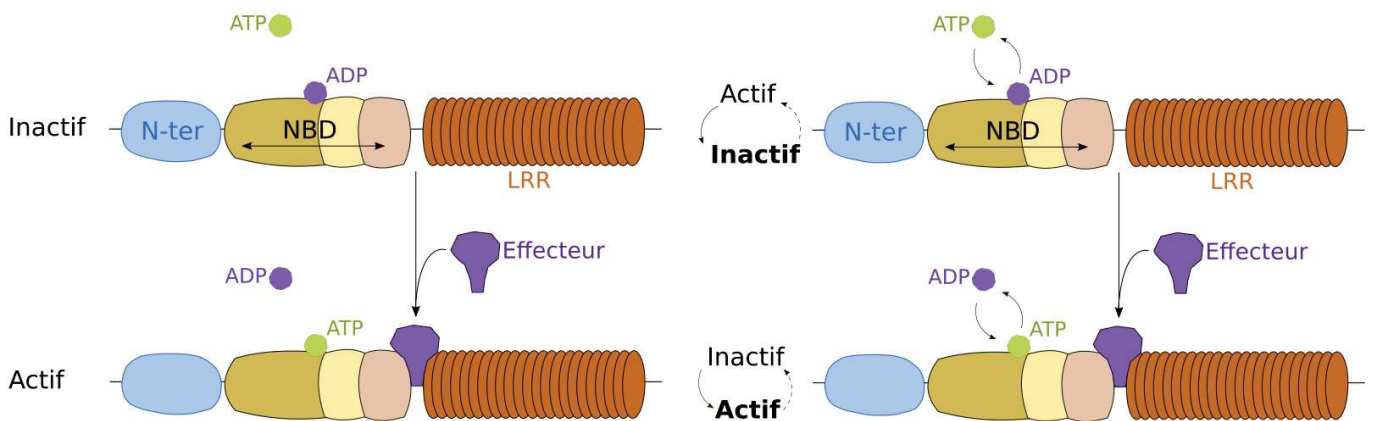


Figure 4. Deux modèles de liaison ATP/ADP des NB-LRRs chez les plantes.

Dans le modèle d'échange ATP/ADP, les NB-LRRs à l'état de repos sont liés à l'ADP. Lors de la détection d'un pathogène, l'ADP est libéré et l'ATP entre dans la poche de liaison pour induire et stabiliser les changements de conformation. Dans le modèle de commutation d'équilibre, les NB-LRR passent d'un état inactif lié à l'ADP à un état actif lié à l'ATP. La perception de l'effecteur pousse l'équilibre vers l'état lié à l'ATP, conduisant à l'activation des complexes NB-LRR. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

Par ailleurs, il existe une classe de gènes de résistance chez les plantes qui a évolué afin de piéger les effecteurs des agents pathogènes au niveau du promoteur des gènes de l'hôte; on les nomme gènes exécuteurs (**Cette catégorie de gènes sera détaillée plus bas, voir section V. 4. c**). Cependant, une grande partie des protéines clés de l'ETI appartiennent à une famille de récepteurs intracellulaires polymorphes nommés NB-LRR ("Nucleotide-Binding Leucine-Rich-Repeat") (Jones and Dangl 2006; Jacob et al. 2013).

- Les NB-LRR

S'élevant à plusieurs centaines dans chaque génome de plante, les gènes *NB-LRR* évoluent rapidement. Leur expansion et diversification sont sans doute dû aux forces évolutives imposées par la présence de pathogènes, évoluant eux-même très vite, afin d'obtenir de nouvelles capacités de reconnaissance (Adachi et al. 2019).

L'architecture des récepteurs NB-LRR se compose de trois domaines principaux (Figure 3) :

i) un **domaine N-terminal** qui permet de classer en trois différentes catégories les NB-LRR contenant soit des domaines "Toll-interleukine-1 receptor" (TIR), "Coiled-Coil" (CC), ou bien encore "resistance to powdery mildew 8" (RPW8) (pour revue dans (Duxbury et al. 2021). Les TIR-NB-LRR (ou TNL) sont présents uniquement chez les dicotylédones, tandis que les CC-NB-LRR (ou CNL) sont conservés à la fois chez les dicotylédones et les monocotylédones (Yue et al. 2012; Jacob et al. 2013).

ii) un **domaine central NBD** ("nucleotide binding domain") qui peut être divisé en trois sous-domaines conservés : les sous-domaines NB, ARC1 et ARC2 (Biezen and Jones 1998; Takken et al. 2006),

iii) un **domaine LRR** ("leucine-rich repeat") qui permet l'interaction protéine-protéine et à la fois la perception des ligands et la régulation de l'activité des NB-LRR (Takken and Goverse 2012).

Le domaine NBD des NB-LRR fait partie de la superfamille des ATPases et permet un changement de conformation de la protéine via l'échange d'une molécule d'ADP en ATP, ceci suite à la perception de l'effecteur. De nombreuses études démontrent que les NB-LRR liés à l'ADP sont dans un état inactif, et que les NB-LRR liés à l'ATP sont dans un état actif (Figure 4, (Tameling et al. 2006; Williams et al. 2011; Slootweg et al. 2013; Wang et al. 2019a, b). Dans un modèle général d'activation des NB-LRR végétaux, les domaines TIR ou CC N-terminaux et LRR C-terminaux coopèrent pour inhiber stériquement le domaine NBD de l'échange ATP/ADP (Takken and Goverse

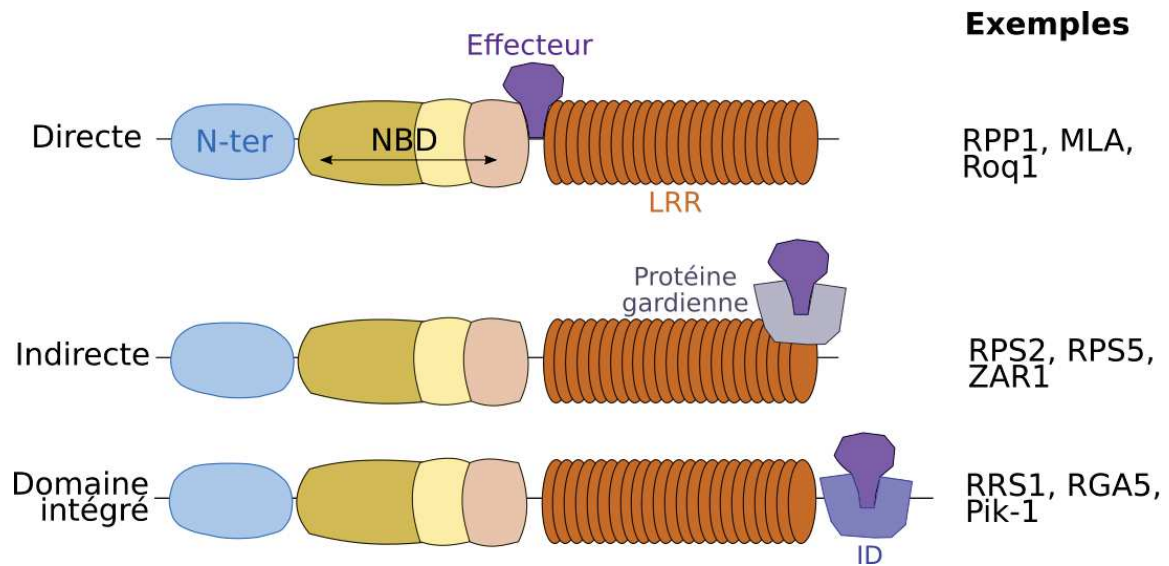


Figure 5. Trois modèles de reconnaissance des effecteurs par les NB-LRRs des plantes.

Certains NB-LRRs de plantes se lient directement aux protéines effectrices correspondantes ou détectent indirectement l'effecteur pathogène par l'intermédiaire des protéines gardées ou decoy. Certains NB-LRRs de plantes ont une identité non canonique pour médier la reconnaissance de l'effecteur. ID, integrated domain; LRR, leucine-rich repeat; N, N-terminal domain (CC, TIR ou RPW8); NBD, nucleotide-binding domain. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

2012; Griebel et al. 2014). Le domaine LRR fonctionne souvent comme une unité auto-inhibitrice qui régule l'activité des NB-LRR végétaux et animaux. Par exemple, les NB-LRR végétaux RPS5 ("Resistance to *Pseudomonas Syringae*5") et RPP1A ("Recognition to *Peronospora Parasitica*1A") deviennent tous deux constitutivement actifs lorsque leurs domaines LRR sont supprimés (Weaver et al. 2006; Qi et al. 2012). En outre, le domaine LRR peut également participer à la liaison directe des ligands au cours de la perception des pathogènes ; par exemple, le domaine LRR de RPP1 est nécessaire et suffisant pour immunoprécipiter son effecteur de reconnaissance ATR1 (Krasileva et al. 2010).

- Les différents modèles d'interactions protéine R/ protéine Avr

On distingue différents modèles décrivant au niveau moléculaire l'interaction protéine Avr - protéine R : i) le modèle ligand-récepteur où l'interaction entre la protéine R et la protéine Avr est directe, ii) les modèles où l'interaction est indirecte, tel que le modèle de garde, ou celui dit de leurre (ou "decoy"), et iii) le modèle de reconnaissance par le biais d'un domaine intégré (ID) où l'interaction avec l'effecteur s'effectue via la reconnaissance par un domaine fusionné au C-terminal du NB-LRR (Figure 5).

Reconnaissance directe:

Le mécanisme le plus simple et le plus intuitif par lequel les NB-LRR perçoivent les effecteurs est l'interaction directe. Par exemple, la série de NB-LRR alléliques Pik chez le riz confère une perception à de multiples effecteurs AVR-Pik dans *Magnaporthe oryzae* par liaison directe. Pikm peut reconnaître trois effecteurs AVR-Pik, tandis que Pikp ne peut en reconnaître qu'un seul. En étudiant les interactions entre Pik et les protéines AVR-Pik, les chercheurs ont pu utiliser l'ingénierie guidée par la structure pour créer un nouvel allèle de Pik qui se lie à un AVR-Pik non reconnu auparavant (De La Concepcion et al. 2019). D'autres exemples de NB-LRR de plantes détectant la présence d'effecteurs par interaction directe incluent le TNL RPP1 d'*Arabidopsis* se liant à l'effecteur ATR1 de *Hyaloperonospora arabidopsidis*, et le CNL Pi-ta du riz qui reconnaît par interaction directe l'effecteur fongique AVR-Pita de *M. oryzae* (Jia et al. 2000; Krasileva et al. 2010). Deux observations plus sophistiquées de reconnaissance directe ont été rapportées pour les complexes Roq1-XopQ et RPP1-ATR1, des TIR-NB-LRR et des effecteurs correspondant aux pathosystèmes *Nicotiana tabacum-Xanthomonas euvesicatoria* et *A. thaliana-Hyaloperonospora arabidopsidis* respectivement, dans lesquels plusieurs chaînes latérales exposées à la surface du domaine LRR et un connecteur allongé entre deux LRRs lient directement les effecteurs (Ma et al. 2020; Martin et al. 2020).

Reconnaissance indirecte:

i) Le modèle de garde : De nombreux NB-LRR de plantes n'interagissent pas directement avec les effecteurs auxquels ils confèrent une reconnaissance. L'hypothèse de garde décrit un modèle de reconnaissance des effecteurs via des interactions ligand-récepteur indirectes (Dangl and Jones 2001). Les NB-LRR de garde surveillent l'intégrité des cibles moléculaires des effecteurs et activent une réponse immunitaire lors de la reconnaissance récepteur-ligand. Chez *Arabidopsis*, la protéine RIN4 ("RPM1-interacting 4") est une protéine réceptrice qui interagit directement avec les NB-LRR de garde RPS2 ("Resistance to *P. syringae* 2") et RPM1 ("Resistance to *P. syringae* pv. *maculicola* 1"). De multiples effecteurs ciblent RIN4, notamment la protéase sécrétée AvrRpt2 de *P. syringae*, qui clive RIN4, conduisant à l'activation de la protéine R RPS2 qui déclenche le signal immunitaire (Axtell and Staskawicz 2003; Mackey et al. 2003). De plus, l'effecteur AvrRpm1 de *P. syringae* induit l'adénosine diphosphate (ADP)-ribosylation de RIN4, qui à son tour conduit à la phosphorylation de RIN4 par les kinases de l'hôte. Le changement de conformation de RIN4 conduit alors à l'activation de la protéine R RPM1, déclenchant ainsi une réaction immunitaire (Chung et al. 2011; Liu et al. 2011b; Redditt et al. 2019). Un autre exemple bien étudié d'un NB-LRR de garde est RPS5, qui surveille la protéine kinase PBS1 ("Arabidopsis AvrPphB Susceptible1"). Le clivage de PBS1 par la protéase effectrice AvrPphB active l'immunité médiée par RPS5 (Shao et al. 2003; Ade et al. 2007).

ii) Le modèle "decoy" : L'hypothèse du modèle de leurre ("decoy"), dérivée du modèle de garde, décrit un scénario selon lequel des protéines gardées par des NB-LRR sont ciblées par des effecteurs, mais ne jouent aucun rôle physiologique discernable dans l'immunité, si ce n'est celui de leurre dans la reconnaissance des effecteurs (Van Der Hoorn and Kamoun 2008). Un exemple de leurre classique est la pseudokinase ZED1 ("HopZ1 ETI deficient 1") qui est nécessaire à l'activation du CNL ZAR1 ("HopZ-activated resistance 1"). ZAR1 confère une reconnaissance indirecte à de multiples effecteurs, dont l'effecteur AvrAC de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* et l'effecteur HopZ1a de *P. syringae* (Lewis et al. 2013; Wang et al. 2015b; Seto et al. 2017; Schultink et al. 2019; Laflamme et al. 2020). AvrAC et HopZ1a respectivement, uridylyle et acétyle des récepteurs de type kinases cytoplasmiques ("Receptor-Like Cytoplasmic Kinase" ou RLCK) pour conférer la virulence (Feng et al. 2012; Lewis et al. 2013). AvrAC uridylyle la protéine RLCK PBL2, résultant en PBL2^{UMP}, qui interagit ensuite avec la protéine RLCK RKS1 ("pseudokinase resistance-related kinase 1") qui fait partie d'un complexe préformé avec ZAR1 (Wang et al. 2015b). L'hétérotrimère ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} s'assemble ensuite en une structure pentamérique en forme de roue appelée résistosome, composée de cinq protomères ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} (Wang et al. 2019a, b). HopZ1a, quant à lui, acétyle la pseudokinase ZED1, faisant partie

d'un autre complexe préformé avec ZAR1, pour déclencher l'assemblage d'un complexe d'ordre supérieur dans la plante, présumé être équivalent au résistosome ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} (Lewis et al. 2013; Hu et al. 2020). D'autres RLCK sont ciblées par HopZ1a et reconnues par le complexe ZAR1-ZED1, où ZED1 exerce une fonction d'adaptateur qui rappelle celle de RKS1 (Bastedo et al. 2019). L'uridylation de PBL2 n'augmente pas la virulence médiée par AvrAC, et ZED1 n'a pas d'activité kinase ; par conséquent, ces protéines hôtes sont considérées comme des leurres et non comme des récepteurs (Lewis et al. 2013; Wang et al. 2015b).

Reconnaissance par le biais d'un domaine intégré :

Certains NB-LRR contiennent des domaines non canonique, appelés domaines intégrés (ID), qui permettent la reconnaissance des effecteurs pathogènes correspondants. La perception des effecteurs se fait pour certains ID par interaction directe, pouvant entraîner dans certains cas une modification enzymatique du domaine intégré. Dans ces cas, la relation entre un ID et un NB-LRR rappelle celle d'un récepteur gardé par un NB-LRR correspondant. En effet, le lien génétique résultant de la fusion d'un ID avec un NB-LRR confère des avantages, c'est-à-dire que le brassage d'allèles qui entraînerait une perte de compatibilité entre une protéine gardée et son NB-LRR est beaucoup moins susceptible de se produire dans la configuration NB-LRR/ID. L'un des exemples de NB-LRR/ID les mieux étudiés est celui de la protéine RRS1 ("Resistance to *Ralstonia solanacearum* 1"), qui contient un domaine WRKY en C-terminal comme ID (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). Les domaines WRKY lient l'ADN, et de nombreux facteurs de transcription contenant des domaines WRKY ont été identifiés pour réguler les réponses immunitaires (Pandey and Somssich 2009). L'effecteur PopP2 de *R. solanacearum* est une acétyltransférase qui se lie et acétyle les facteurs de transcription WRKY, perturbant la liaison à l'ADN et favorisant la virulence (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). Cependant, au cours de l'infection de plantes exprimant RRS1, le domaine WRKY de RRS1 est acétylé par PopP2, et pour les allèles de résistance de RRS1 (RRS1-R), l'acétylation du domaine WRKY est suffisante pour activer une réponse immunitaire, en coopération avec sa paire NB-LRR RPS4 ("Resistance to *P. syringae* 4") (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). RRS1 confère la reconnaissance à d'autres effecteurs, y compris l'effecteur AvrRps4 de *P. syringae*, qui se lie également au domaine WRKY de RRS1 (Sarris et al. 2015). D'autres NB-LRR/ID végétaux bien étudiés comprennent les NB-LRR RGA5 et Pik-1 du riz, qui contiennent des domaines intégrés associés aux métaux lourds (HMA) (Césari et al. 2014).

De récentes études ont montré que certains NB-LRR ont évolué pour fonctionner ensemble, formant à divers degrés des complexes génétiques ou biochimiques. Les NB-LRR peuvent donc fonctionner sous forme de paires, de réseaux fonctionnels, en plus de fonctionner sous la forme d'un singleton. Deux des exemples les plus étudiés de paires NB-LRR sont RPS4/RRS1 d'*Arabidopsis* et

RGA4/RGA5 (également connu sous le nom de Pia-1 et Pia-2) du riz. Dans le cas de RPS4/RRS1, RPS4 est surexprimé et constitutivement auto-actif; cette activation peut être supprimée quand RPS4 est co-exprimé avec RRS1. La perception des effecteurs AvrRps4 et PopP2 par le domaine WRKY de RRS1 initie une réponse immunitaire qui nécessite une interaction directe entre RRS1 et RPS4 (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015; Ma et al. 2018). Par conséquent, RRS1 fonctionne comme un NB-LRR capteur qui supprime l'auto-activité de l'exécuteur RPS4 en l'absence d'effecteurs, et active RPS4 en présence des protéines effectrices. La paire de NB-LRR RGA4/RGA5 détecte également deux protéines effectrices sans séquence apparentée, AVR-Pia et AVR1-CO39 de *M. oryzae*. Les deux effecteurs se lient au domaine HMA intégré dans RGA5 et ce qui active ensuite les réponses immunitaires par l'intermédiaire de RGA4 (Césari et al. 2013, 2014). Une intégration de domaine similaire a été trouvée dans une autre paire de NB-LRR du riz, Pik-1/Pik-2, dans laquelle le domaine HMA est intégré dans Pik-1 et est capable de lier la protéine effectrice AVR-Pik. La détection des allèles AVR-Pik par Pik-1 active les réponses immunitaires par l'intermédiaire de l'exécuteur apparié Pik-2 (Ashikawa et al. 2008; Maqbool et al. 2015). Il est intéressant de noter qu'une étude récente a révélé que 20 % des NB-LRR du génome du riz Tetep sont appariés (Wang et al. 2019c), ce qui suggère que le système NB-LRR apparié pourrait contribuer de manière significative à la résistance aux maladies de certains cultivars de riz.

3. Transduction du signal éliciteur

Il est important de noter que la PTI et de l'ETI diffère par le mode de reconnaissance du premier signal (MAMP ou ET3), par la puissance de la réponse, sa localisation, sa vitesse et la durée de sa mise en place. Toutefois une grande partie des voies de signalisation conduisant à leur mise en place respective sont partagées. Elles conduisent toutes deux à l'activation de diverses voies de transduction de signaux impliquant les MAPK ("mitogen-activated protein kinases"), les espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'acide salicylique (SA), l'acide jasmonique (JA), l'éthylène (ET), et d'autres phytohormones et molécules de signalisation. Ces phénomènes aboutissent à la production de composés antimicrobiens et de métabolites secondaires, à la modification de la structure cellulaire par le dépôt de callose et à la mort cellulaire programmée en réponse au stress (Pedley and Martin 2005; Meng and Zhang 2013).

a) L'influx de Ca^{2+}

L'une des premières réponses physiologiques connues à la perception des MAMP/DAMP, relative à la PTI, est un afflux de Ca^{2+} extracellulaire dans le cytosol, qui se produit entre 30 sec et 2 min et atteint un pic vers 4-6 min (Jeworutzki et al. 2010; Ranf et al. 2011; Nomura et al. 2012). En plus de l'influx transitoire et rapide de Ca^{2+} dans le cytosol lors de la perception de MAMP, Nomura et ses

collaborateurs (2012) ont observé une deuxième augmentation de longue durée (de $t_0 + 8$ min à plus de $t_0 + 30$ min dans le cas du flg22) du niveau de Ca^{2+} libre dans le stroma du chloroplaste. La signalisation relative à la mise en place de l'ETI, a contrario, induit un influx de Ca^{2+} plus lent mais plus durable (Grant et al. 2000). Le Ca^{2+} est considéré comme un messager secondaire interagissant, en outre, avec diverses protéines médiatrices de la réponse immunitaire (Bigéard et al. 2015).

b) La production de ROS

Les ROS, qui jouent un rôle clé dans la défense et la signalisation, sont induits à la fois dans la PTI et l'ETI. Alors que la PTI induit une émission de ROS rapide et transitoire, appelée "burst oxydatif", l'ETI est associée à une émission de ROS biphasique, le second pic étant généralement beaucoup plus fort et plus durable que le premier (Chai and Doke 1987; Levine et al. 1994). Ainsi, 2-3 min après la perception des MAMP, une production extracellulaire de ROS survient et atteint son maximum vers 10-14 min (Chinchilla et al. 2007; Nühse et al. 2007; Ranf et al. 2011). Chez *Arabidopsis*, la NADPH oxydase localisée dans la membrane plasmique, appelée "respiratory burst oxidase homolog D" (RBOHD), est responsable de cette explosion de ROS induite par les MAMP (Zhang et al. 2007; Nühse et al. 2007; Ranf et al. 2011). De multiples protéines kinases associées à la PTI, y compris BIK1/PBL, CPK, SIK1 et CRK2, phosphorylent directement RBOHD pour déclencher la production extracellulaire de ROS dans *Arabidopsis* (Li et al. 2014; Kadota et al. 2014; Kimura et al. 2020; Lee et al. 2020). RBOHD joue également un rôle de médiateur dans la production de ROS au cours de l'ETI initiée par RPS2 et RPM1, et la phosphorylation de RBOHD aux résidus Ser³⁴³ et Ser³⁴⁷ est importante pour la production de ROS à la fois dans la PTI et l'ETI (Torres et al. 2002; Kadota et al. 2019; Yuan et al. 2021). Deux études récentes ont montré que le deuxième "burst oxydatif", pendant l'ETI, nécessite de manière surprenante la perception des MAMP par la plante (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021). Cela suggère que la deuxième phase de ROS associée à l'ETI dépend de la signalisation découlant des PRR. En outre, cette signalisation PRR-dépendante est nécessaire pour la phosphorylation maximale de RBOHD pendant l'ETI, tandis que la signalisation NB-LRR-dépendante (relative à l'ETI) régule à la hausse les niveaux de RBOHD (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021), ce qui souligne la double exigence de la signalisation PRR- et NB-LRR- dépendante pour assurer une production robuste de ROS pendant l'ETI.

c) Les MAP kinases

Outre la phosphorylation des complexes de récepteurs immunitaires mentionnée précédemment, qui se produit en quelques secondes, d'autres protéines kinases sont rapidement activées lors de la perception des MAMP. La majorité d'entre elles appartiennent aux familles de protéines kinases CDPK ("Ca²⁺-induced calcium-dependent protein kinases"), MAPK et AGC (Protein kinase A, G et

C) et sont considérées comme des éléments clés permettant la régulation d'un large spectre de cibles protéiques, telles que les facteurs de transcription, les enzymes métaboliques, les protéines de la membrane plasmique et les protéines du cytosquelette (Nühse et al. 2007; Rayapuram et al. 2014). Le génome d'*Arabidopsis* code pour 20 MAPK, 10 MAPKK (MAPK Kinases), et 60 MAPKKK (MAPKK Kinases) (Ichimura et al. 2002). Les MAPKKK, MAPKK, et MAPK constituent des modules de signalisation qui traduisent les stimuli extracellulaires en signaux intracellulaires, par la phosphorylation de protéines intermédiaires. Ces protéines ont été largement étudiées dans le contexte des interactions plantes-pathogènes (Meng and Zhang 2013). Chez *A. thaliana* lors d'un traitement par le peptide flg22 et d'autres MAMP, quatre MAPK (MPK3, MPK4, MPK6 et MPK11) sont activées dans les 1 à 2 min pour atteindre un pic d'activité à 10-15 min, qui diminue ensuite rapidement (Nühse et al. 2000; Zipfel et al. 2006; Bethke et al. 2012). L'activation de la signalisation NB-LRR-dépendante déclenche une activation des MAPK plus lente mais plus durable, comme pour l'influx de Ca^{2+} (Tsuda et al. 2013; Su et al. 2018). Alors que les kinases de la famille RLCK phosphorylent directement les MAPKK après la perception des MAMP au cours de la PTI (Yamada et al. 2016; Yan et al. 2018; Bi et al. 2018), la façon dont la cascade de MAPK est activée au cours de l'ETI reste à élucider. De manière intéressante, RRS1/RPS4 et RPP4 qui sont des TNL, ne peuvent pas déclencher l'activation de MAPK chez des lignées d'*Arabidopsis* transgéniques exprimant AvrRps4 ou AvrRpp4 en l'absence de signalisation PRR-dépendante (Ngou et al. 2020, 2021), ce qui suggère que la phosphorylation des MAPK associée aux TNL est dépendante de la voie de signalisation de la PTI. Cependant, l'activation de la cascade de MAPK par les CNL tels que RPS2, RPS5 et RPM1, semble être indépendante de la signalisation médiée par les PRR (Yuan et al. 2021), ce qui indique que les PRR et les CNL pourraient activer la cascade de MAPK par des mécanismes différents (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021).

d) Les hormones végétales

Enfin, l'implication des phytohormones dans la régulation des réponses de défense aux stress biotiques des plantes ne peut être exclue. L'ETI et la PTI induisent des voies de signalisation spécifiques dans lesquelles trois phytohormones sont cruciales, à savoir l'acide salicylique (SA), le jasmonate (JA) et l'éthylène (ET). Les voies de régulation du SA sont le plus souvent induites par les agents pathogènes biotrophes et héli-biotrophes. De même, les voies de régulation du JA et de l'ET sont en général induites par les agents nécrotrophes et les ravageurs masticateurs (Bari and Jones 2009; De Vleeschauwer et al. 2014). D'autres phytohormones, comme l'acide abscissique (ABA), l'auxine (AIA), les gibbérellines (GA), les cytokinines (CK) et les brassinostéroïdes (BR), modulent l'immunité principalement par des interactions avec le SA et le JA. Les voies de signalisation médiées par ces phytohormones interagissent de manière antagoniste ou synergique.

Les interactions hormonales forment collectivement des réseaux de signalisation, qui interviennent dans l'immunité ainsi que dans la croissance et les réponses au stress abiotique de la plante (Pieterse et al. 2009). L'infection par un agent pathogène biotrophe provoque une accumulation accrue de SA chez les eudicotylédones comme *A. thaliana*, le fraisier, le poivron et la pomme de terre (Halim et al. 2007; Yang et al. 2011; Fu et al. 2011; Grellet-Bournonville et al. 2012; Kim and Hwang 2014), mais cela ne semble pas être le cas chez les monocotylédones. Cependant, des expériences montrent que l'application exogène de SA, ou de son analogue synthétique le benzothiadiazole (BTH), déclenche des réponses immunitaires et une résistance contre les pathogènes biotrophes et hémibiotrophes aussi bien chez les eudicotylédones que chez les monocotylédones (Yang et al. 2011; Grellet-Bournonville et al. 2012; Sugano et al. 2013; Ueno et al. 2015). L'application de JA déclenche l'immunité contre les pathogènes nécrotrophes chez *A. thaliana*, le riz et *Medicago truncatula* (Spoel et al. 2007; Taheri and Tarighi 2010; Gaige et al. 2010). En plus des pathogènes nécrotrophes, le JA est associé à la défense contre les herbivores chez de nombreux angiospermes, tels que *A. thaliana*, le maïs, le peuplier, *Picea sitchensis*, *Nicotiana attenuata* et *M. truncatula* (Howe and Jander 2008). L'ET, quant à lui, contribue positivement ou négativement à l'immunité selon l'agent pathogène, les conditions environnementales et l'espèce végétale. Par exemple, chez le soja, l'insensibilité à l'ET augmente la sévérité de la maladie causée par le champignon nécrotrophe *Rhizoctonia solani* (Hoffman et al. 1999), alors que l'expression accrue de l'enzyme ACS2, impliquée dans la voie de biosynthèse de l'ET, favorise la résistance contre *R. solani* chez le riz (Helliwell et al. 2013). Ainsi, comme cela a été signalé chez *A. thaliana*, les rôles positifs de l'ET dans la résistance aux nécrotrophes semblent répandus chez les angiospermes (Glazebrook 2005). L'ET contribue également à la résistance contre les pathogènes biotrophes et hémibiotrophes chez l'arabette, le soja, le tabac et le riz (Hoffman et al. 1999; Shibata et al. 2010; Helliwell et al. 2013; Tintor et al. 2013). Chez *A. thaliana*, la perception du peptide bactérien flg22 déclenche la production d'ET par l'augmentation de l'expression du gène ACS et la stabilisation de la protéine (Liu and Zhang 2004; Denoux et al. 2008). Cependant, il existe de nombreux exemples dans lesquels l'ET favorise la sensibilité aux maladies contre les biotrophes et les hémibiotrophes (Lund et al. 1998; Chen et al. 2009b, a; Shen et al. 2011; Liu et al. 2016). Cette dichotomie peut être expliquée par les interactions complexes entre la voie de signalisation de l'ET avec celles du SA et JA (Pieterse et al. 2009).

En plus des mécanismes de défense induits au site de l'infection, les plantes peuvent également activer des réponses immunitaires systémiques qui confèrent un état de résistance généralisé au niveau de la plante entière. Les mécanismes de signalisation de la défense systémique comprennent la résistance systémique induite ("Systemic Induced Resistance" ou SIR), qui est déclenchée en réponse à la colonisation des racines par des microbes bénéfiques (Van Wees et al. 2008), et la

résistance systémique acquise ("Systemic Acquired Resistance" ou SAR), qui est activée en réponse à une infection par un pathogène (Spoel and Dong 2012; Kachroo and Robin 2013; Gao et al. 2014). L'induction de la résistance systémique acquise implique la génération d'un ou de plusieurs signaux mobiles au site de l'infection primaire, qui se déplacent vers les tissus distaux et préparent la plante contre les infections futures. En 1993, il est découvert que le SA est un signal important dans l'induction de la SAR (Gaffney et al. 1993). Cette hormone stimule la voie SAR en favorisant l'expression des gènes *PR*, qui à leur tour rendent la plante tolérante contre une large gamme de pathogènes (Grant and Lamb 2006; Fu and Dong 2013; Ádám et al. 2018).

4. Contournement de la résistance (ETS)

Pour contourner les mécanismes de défense mis en place par les plantes, les agents pathogènes ont acquis la capacité à déjouer la PTI et/ou l'ETI via l'utilisation et la diversification de leurs effecteurs. Ces protéines permettent l'atténuation ou la suppression des réponses de défense primaires permettant ainsi la multiplication de l'agent pathogène, la colonisation des tissus de l'hôte et en conséquence le développement de la maladie. On parle d'ETS pour "Effector Triggered Susceptibility" ou Sensibilité médiée par les Effecteurs (Jones and Dangl 2006; Balmer et al. 2013). En 2020, Mondal et ses collaborateurs démontrent le rôle clés de trois effecteurs Xop ("Xanthomonas outer protein") dans la pathogénèse, permettant l'évitement de la PTI, de *X. axonopodis punicae* (*Xap*) chez le grenadier. En effet les effecteurs XopC2, XopL et XopN suppriment l'induction du dépôt de callose, la production de ROS au niveau du site d'infection, régulent négativement, directement ou indirectement, l'expression de certains gènes de défenses comme *FRK1*, *GST1*, *PR1*, *PR2*, *PR5* et *WRKY29* (Kumar et al. 2016; Mondal et al. 2020), favorisant la prolifération de *Xap* chez le grenadier.

Chez *X. euvesicatoria*, pathogène de la tomate, l'effecteur XopD joue plusieurs rôles dans la mise en place de l'ETS et le développement de la maladie. Kim et ses collaborateurs mettent en évidence l'implication de XopD dans l'altération des voies de signalisation du SA et de l'ET (Kim et al. 2008, 2013). XopD cause une réduction de l'expression des gènes associés aux réponses de défense, ainsi que de la production de SA. Il permet également la répression de la transcription des gènes induits par le SA et le JA, permettant la prolifération bactérienne, se traduisant par un retard du développement des symptômes dans les feuilles de tomates (Kim et al. 2008). Par ailleurs, XopD réprime directement la production d'ET et les défenses stimulées par l'ET en ciblant directement le facteur de transcription (TF) SIERF4 de la tomate. XopD colocalise avec SIERF4 dans les compartiments subnucléaires et effectue une désuoylation de la lysine 53 de SIERF4 causant sa déstabilisation et par conséquent une diminution du niveau de SIERF4 et une réduction de sa transcription (Kim et al. 2013).

En 2018, Medina et ses collaborateurs ont investigué le rôle des effecteurs Xop de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*), pathogène du manioc, dans la virulence et la modulation de l'immunité. Ils rapportent que parmi les 17 ET3 Xop de la souche *Xpm* CIO151, XopR, XopAO1 et AvrBs2 suppriment la PTI, mais que la suppression de l'ETI a seulement été observée par XopE4 et XopAO1. Grâce à l'expression hétérologue de XopR, XopAO1 et AvrBs2 dans *P. fluorescens* 55 (*Pf55*), et l'inoculation de ce dernier sur le tabac, ils démontrent que ces trois Xop provoquent une réduction du dépôt de callose (Medina et al. 2018). Toujours dans le même système hétérologue *Pf55*, les Xop de *Xpm* CIO151 sont testés pour voir leur capacité à réduire la HR provoquée par l'effecteur HopA1 de *Pf55* sur le tabac. Ces expériences montrent que deux d'entre eux, XopE4 et XopAO1 permettent respectivement de diminuer et d'abolir totalement la HR provoquée sur le tabac par HopA1. Chez le riz, le dépôt de callose et la production de ROS sont supprimés par l'effecteur XopR de *Xoo* (Verma et al. 2019).

II. Cartographie génétique et localisation de locus à effet quantitatif (QTL)

Une grande partie des résistances à *X. oryzae* pv. *oryzae*, ainsi qu'à d'autres pathogènes, ont été identifiées par cartographie génétique (Albar et al. 2003; Djedatin et al. 2016; Huerta et al. 2021). Cette méthode, basée sur le taux de recombinaison génétique entre plusieurs loci ou gènes, permet de déterminer la position relative de ces derniers sur un chromosome, ou à plus large échelle sur un génome entier. Son unité de distance est le centimorgan (cM)². Par ailleurs, plusieurs études ayant permis la détection de loci intervenant dans divers mécanismes tels que la résistance à la submersion, aux pathogènes ou encore la floraison, reposent sur la cartographie de locus à effet quantitatif (ou QTL, de l'anglais "Quantitative Trait Locus") (Hirabayashi et al. 2015; Raghavan et al. 2017; Ramakrishnan et al. 2019). Dans les paragraphes suivants sont rappelés brièvement les principes de cette méthode.

1. Généralités sur la cartographie génétique

En génétique un caractère phénotypique peut être gouverné par un ou plusieurs gènes, on parle alors de caractère mono ou polygénique, respectivement. Comme exemple de caractère monogénique connu, il existe celui exposé par Gregor Mendel chez le petit pois (*Pisum sativum* L.). La forme du grain du pois est gouvernée par une seule gène qui, en fonction de sa combinaison d'allèles, donne un pois lisse ou ridé. En ce qui concerne un caractère polygénique, son phénotype est le résultat de

² Rappelons que le cM est l'unité de distance utilisée en cartographie génétique. Elle vaut le centième du Morgan, qui lui-même correspond à la distance entre deux loci, nécessaire pour qu'il y ait en moyenne un "crossing over" entre ces loci par méiose. Pour des distances très faibles, le cM équivaut à une fréquence de recombinaison de 1%. Pour des distances plus élevées, il faut tenir compte des doubles recombinaisons non observées. On utilise alors une fonction de cartographie pour convertir les fréquences de recombinaison en cM, par exemple celles de Haldane ou de Kosambi (Haldane 1931, Kosambi 1944).

l'expression de plusieurs gènes, comme dit précédemment. Dans ce cas, chaque gène contribue en partie au phénotype final observé; on parle alors de loci/locus à effet quantitatif, ou QTL.

Depuis Mendel, et Morgan, on sait qu'il est possible de compter et localiser les facteurs, autrement dit les gènes, qui gouvernent des caractères monogéniques, à phénotypes discrets pouvant être catégorisés en deux ou trois modalités, par exemple les modalités "lisse" et "ridé" chez le pois. Ce sont les travaux pionniers de l'équipe de Morgan qui ont permis d'établir, dès 1913, la première carte de liaison génétique composée de six gènes chez la drosophile (Sturtevant 1913). Une carte de liaison génétique permet de représenter les positions relatives des gènes sur un même chromosome. L'ordre de ces gènes est alors déterminé en fonction de leur groupe de liaison, ce dernier représentant l'ensemble des gènes, loci ou marqueurs qui sont liés entre eux. Cette organisation repose sur une méthode simple basée sur la "force de la liaison" ("strength of linkage"), qui n'est autre que la fréquence de recombinaison.

Cette méthode ne permet pas, cependant, de localiser les facteurs de caractères polygéniques à variation continue, nommés caractères quantitatifs, qui ne peuvent se réduire en catégories. Dans une population issue d'un croisement, la distribution de tels caractères s'approchera d'autant plus d'une distribution normale, aussi appelée gaussienne, que le nombre de facteurs qui les composent est grand. C'est le modèle infinitésimal. En 1923, Sax a été le premier à présenter une méthode permettant d'associer un caractère qualitatif, ou facteur, à un caractère quantitatif, ou variable expliquée. Il montra ainsi que la couleur du grain du haricot commun, *Phaseolus vulgaris*, pouvait expliquer en partie la variation du poids du grain (Sax 1923). Évidemment, ce n'était pas la couleur du grain elle-même qui était liée physiologiquement au poids du grain, mais ce gène devait être lié génétiquement à un autre, qui fut découvert par la suite (Johnson et al. 1996).

2. La détection de QTL

Il s'avère que Sax avait eu un peu de chance, car la probabilité qu'un des rares gènes cartographiés à l'époque chez le haricot soit localisé suffisamment près du facteur réel qui influence le poids du grain était faible. D'autre part, il n'avait pas accès aux autres gènes qui pouvaient être liés aux autres facteurs du poids du grain. Aujourd'hui, cette contrainte est levée puisqu'on établit des cartes génétiques au moyen, non plus de gènes, mais de marqueurs moléculaires dont les premiers représentants furent les isoenzymes, puis des marqueurs directement basés sur les variations de l'ADN (Mackill et al. 1993). Les marqueurs moléculaires sont un type de marqueur génétique défini par une séquence d'ADN particulière utilisée pour baliser les chromosomes. Un marqueur moléculaire possède un emplacement physique identifiable (locus) sur un chromosome, ce qui permet de suivre la transmission d'un segment de chromosome d'une génération à l'autre. Les marqueurs sont utilisés en tant que première étape dans la recherche de la position et de l'identité

d'un gène. Largement utilisés en génétique humaine, végétale, animale et microbienne, ils permettent de montrer des variations (polymorphismes) de la séquence d'ADN entre deux individus. Comme exemple de marqueurs moléculaires on peut citer rapidement les RAPD ("Random Amplification of Polymorphic DNA"), les RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism"), les AFLP ("Amplified Fragment Length Polymorphism"), puis les microsatellites ou SSR ("Simple Sequence Repeat"), et les plus communément utilisés aujourd'hui, les SNP ("Single Nucleotide Polymorphism") (Dar et al. 2019). De par leur abondance, les marqueurs moléculaires présentent l'énorme avantage de pouvoir reconstituer une carte génétique qui couvre l'ensemble du génome, et ceci en analysant la descendance d'un seul croisement. Les SNP se comptent la plupart du temps par millions entre deux génomes d'une même espèce pris au hasard. Dans une étude de QTL moderne, on peut donc compter sur des marqueurs situés "très proche" de tous les facteurs génétiques qui composent le caractère quantitatif. De plus, on peut aussi évaluer la contribution relative, c'est-à-dire la part de variance du caractère expliquée par chacun de ces facteurs. Enfin, dans certains schémas de croisement, on peut estimer pour chacun des facteurs, la relation entre l'additivité et la dominance du locus considéré.

Contrairement aux analyses de type GWAS ("Genome-Wide Association Analysis"), basées sur l'étude des variations génétiques et phénotypiques chez de nombreux individus, la précision de la localisation des QTL dans des descendance issues de croisement peut s'avérer ne pas être très bonne en fonction de la taille de la population. Selon l'ampleur de l'effet d'un QTL sur le caractère, la taille de la population ou encore l'incertitude sur le phénotype, son intervalle de support ("support interval"), c'est-à-dire la taille de la région de haute probabilité de présence du QTL, varie. Ainsi, cet intervalle peut couvrir quelques centaines de kilobases à plusieurs mégabases. En revanche, cette méthode est très robuste, en ce sens qu'elle génère beaucoup moins de faux positifs que le GWAS. Cette approche peut être avantageusement complétée par une étude de cartographie fine, aussi appelée "fine mapping" en anglais, qui permet de localiser le QTL étudié très précisément. La cartographie fine permet d'analyser, dans la région identifiée, les variations génétiques particulières qui sont susceptibles d'influencer de manière causale le trait examiné.

Par la suite, si un génome annoté est disponible pour l'espèce étudiée, on peut alors projeter les bornes du nouvel intervalle de support, largement réduit grâce à la cartographie fine, sur ce génome et en extraire la liste des gènes présents dans cette région. L'annotation fonctionnelle de ces gènes permet ensuite d'identifier ceux qui sont les plus probablement impliqués dans le caractère; on parle de gènes candidats. Ces candidats pourront être testés par des analyses de complémentarité fonctionnelle, en introduisant un gène par transformation génétique, ou par des analyses d'inactivation de fonction, par exemple en créant des mutants dont les gènes candidats sont

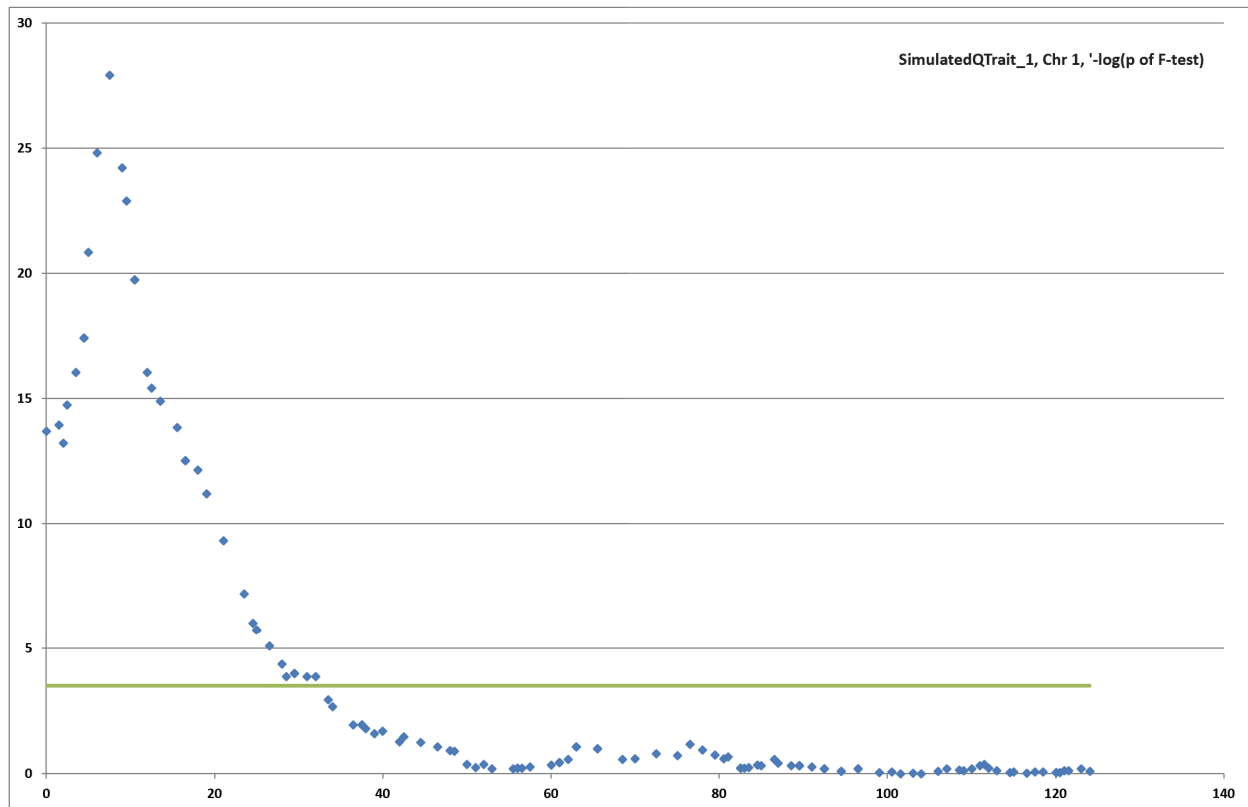


Figure 6. Analyse par "single marker regression" (SMR) d'un caractère hypothétique dans une population F_2 simulée de 100 individus.

L'axe des abscisses représente la position en centimorgans (cM) sur un chromosome, l'axe des ordonnées est la valeur $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F. Le QTL simulé est placé arbitrairement à la position 10 cM. Le chromosome simulé mesure 120 cM. Des marqueurs sont placés tous les 1 cM.

inactivés par réduction de leur expression ("knock down") ou bien par délétion ou mutation ciblée ("knock out"). Dans les deux cas, la validation fonctionnelle du candidat est obtenue si le phénotype du mutant ou du transformant est différent du phénotype sauvage. La porte est alors ouverte pour étudier plus précisément le rôle du gène validé, par des études d'expression/co-expression, de protéomique, etc.

3. Les modèles d'analyses

De très nombreux ouvrages et articles scientifiques ont été consacrés aux études de QTL, sur la partie théorique (les méthodes statistiques) et sur l'application à des organismes pour lesquels on peut effectuer des croisements (plantes, animaux, champignons) ou analyser des familles (Homme). Chez certaines plantes, les pérennes en particulier, les animaux, ou l'Homme, une étude de QTL nécessite souvent de combiner l'information de plusieurs familles, dont l'analyse requiert des modèles statistiques complexes. Chez d'autres plantes, souvent des annuelles comme le riz, on peut générer aisément des lignées pures, puis des descendance à grand effectif à partir d'un seul croisement, ce qui permet d'utiliser des modèles d'analyse bien plus simples mais tout aussi puissants.

Les premières méthodes de QTL étaient basées sur des modèles extrêmement simples (Soller et al. 1976; Edwards et al. 1987). Ces modèles testent l'effet sur le caractère de chaque marqueur pris individuellement ("Single Marker Regression", SMR). Il s'agit tout simplement d'un test F, dans lequel on compare les moyennes phénotypiques, en tenant compte des variances, des deux ou trois, selon le croisement, classes alléliques du marqueur. Si le test F est déclaré significatif, alors on sait que le marqueur est lié au QTL. Le seuil à retenir pour déclarer le test F significatif peut être calculé analytiquement ou empiriquement (permutations). On répète ce test pour tous les marqueurs, éventuellement ordonnés sur les groupes de liaison si on a pu construire la carte génétique. On peut alors construire un graphique où x est la position du marqueur et y est la valeur du test F, ou de $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F. Ce graphique permet de visualiser aisément les pics qui indiquent la présence la plus probable du QTL (Figure 6).

Comme, dans les années 1980, les cartes génétiques étaient construites à partir de marqueurs RFLP, onéreux et chronophages, les intervalles séparant les marqueurs les uns des autres étaient "grands", pouvant atteindre la trentaine de centimorgans. Si, par exemple un QTL est situé dans un intervalle de taille importante, on ne pourra donc pas connaître sa position précise. Lander et Botstein, en 1988, ont posé les fondements de la cartographie par intervalle ("Interval Mapping", ou SIM pour "Simple Interval Mapping"), qui permet d'estimer la position d'un QTL dans un intervalle en utilisant l'information des deux marqueurs qui le définissent (Lander and Botstein 1989). La

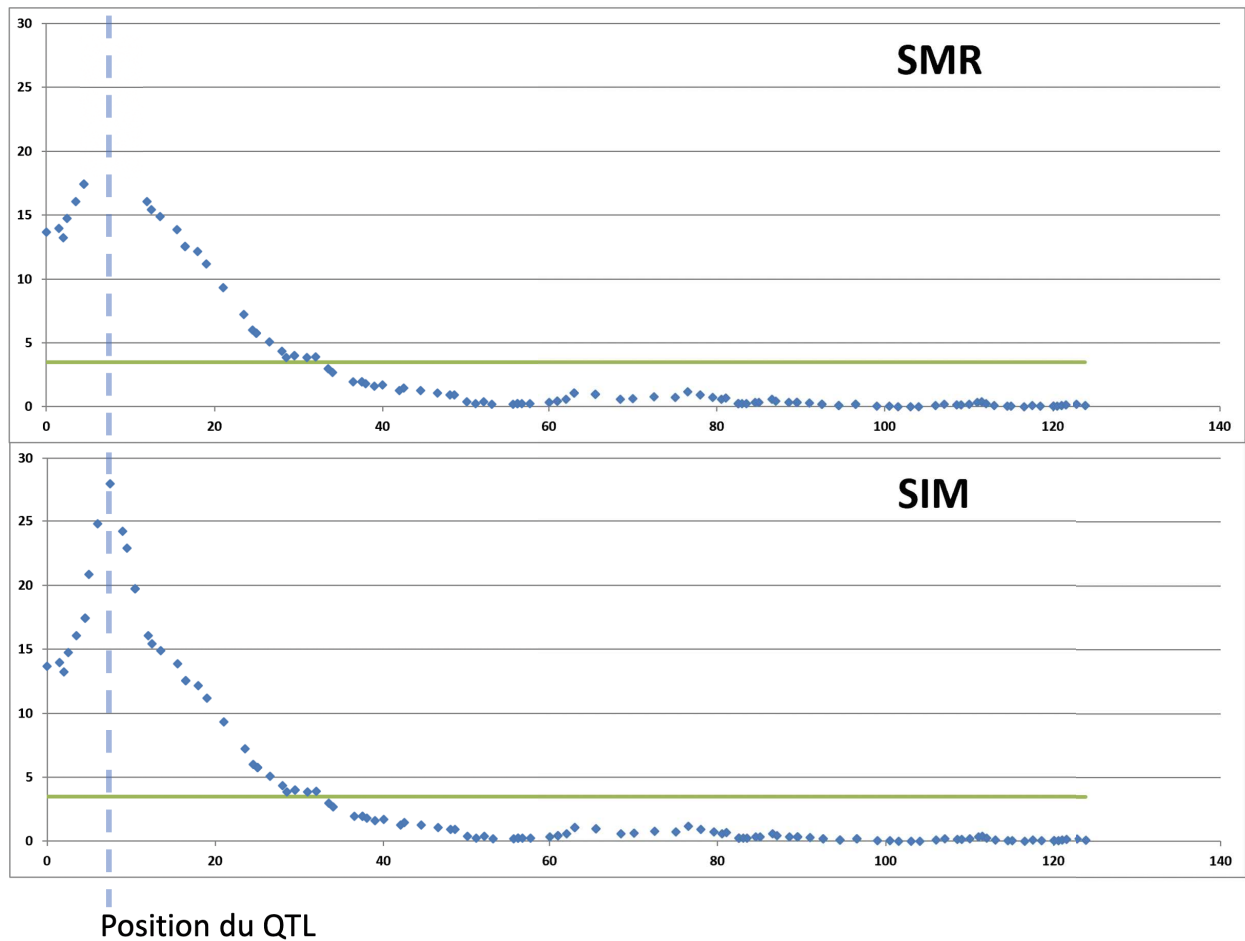


Figure 7. Avantage de l'analyse "simple interval mapping" (SIM) par rapport au SMR.

L'axe des abscisses représente la position en centimorgans (cM) sur un chromosome, l'axe des ordonnées est la valeur $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F (SMR), ou du LOD score (SIM). Les conditions de simulations sont identiques à la Figure 6, excepté que, pour l'analyse SMR, des marqueurs ont été supprimés afin de simuler un intervalle sans marqueurs. La méthode SIM permet de localiser le QTL exactement à la position simulée.

méthode est basée sur la méthode du LOD score, LOD signifiant "Logarithm of the Odds". C'est donc un rapport de vraisemblance, mais calculé avec des logarithmes en base 10. Ce LOD est donc le \log_{10} du rapport de vraisemblance de présence d'un QTL sur la vraisemblance d'absence de QTL. Il est calculé sur une maille de positions prédéfinies (des marqueurs virtuels), par exemple à chaque cM. Puisqu'on ne connaît l'état allélique des chromosomes qu'au niveau des positions des véritables marqueurs, il est nécessaire de l'inférer au niveau de tous les points de la maille. On calcule donc, en chaque marqueur virtuel la probabilité pour chaque individu d'être homozygote pour l'un ou l'autre allèle, ou hétérozygote. Cette probabilité est calculée en fonction de l'état des marqueurs bordants et du phénotype. Le LOD score est alors calculé à partir de ces probabilités et des valeurs phénotypiques. On peut, comme pour l'analyse SMR, représenter graphiquement ce LOD score en fonction de la position sur le chromosome. On voit clairement sur la Figure 7 l'avantage de l'interval mapping par rapport au SMR. Évidemment, l'intérêt de cette méthode est moindre aujourd'hui, puisqu'il devient rare que les cartes ne soient pas bien saturées de marqueurs. Enfin, de nombreuses améliorations ont été apportées à la méthode SIM. En particulier, une famille de méthodes basées sur la prise en compte du "bruit" généré par l'ensemble des facteurs génétiques sur un QTL donné : un QTL peut en effet être masqué partiellement ou totalement par l'effet d'autres QTL. Ces méthodes, dont font partis le "Composite Interval Mapping" (CIM, (Jansen and Stam 1994; Zeng 1994), l' "Inclusive Composite Interval Mapping" (ICIM, (Zhang et al. 2012), ou encore le "Multiple Interval Mapping" (MIM, (Kao et al. 1999), sont toutes basées sur la prise en compte de cofacteurs, qui ne sont autre que les QTL, à l'exception de la région sous analyse. Plusieurs approches sont utilisées pour la détection puis la prise en compte des cofacteurs ("forward", "backward", "stepwise"), ce qui aboutit parfois à des différences conséquentes quant aux QTL détectés et leurs effets.

III. Le riz

1. L'importance du riz dans le monde: une céréale majeure dans l'alimentation

Le riz, *Oryza* spp., est une culture céréalière qui constitue de nos jours la base de l'alimentation pour plus de la moitié de la population mondiale. L'augmentation continue de cette population engendre de nombreux défis pour la production de cette céréale.

En 2018, plus de 165 millions d'hectares étaient consacrés à la production de riz, et plus de 780 millions de tonnes de riz ont été produites dans le monde (Figure 8, FAO 2018). Cette année (2021) la Chine est, comme toujours, le plus grand pays producteur de riz au monde avec 211 090 813 de tonnes de volume de production par an. L'Inde arrive en deuxième position avec 158 756 871 de tonnes de production annuelle et la France avec 81 075 tonnes est classée à 80 (<https://www.atlasbig.com/fr-fr/pays-par-production-de-riz>). A l'heure actuelle les principaux

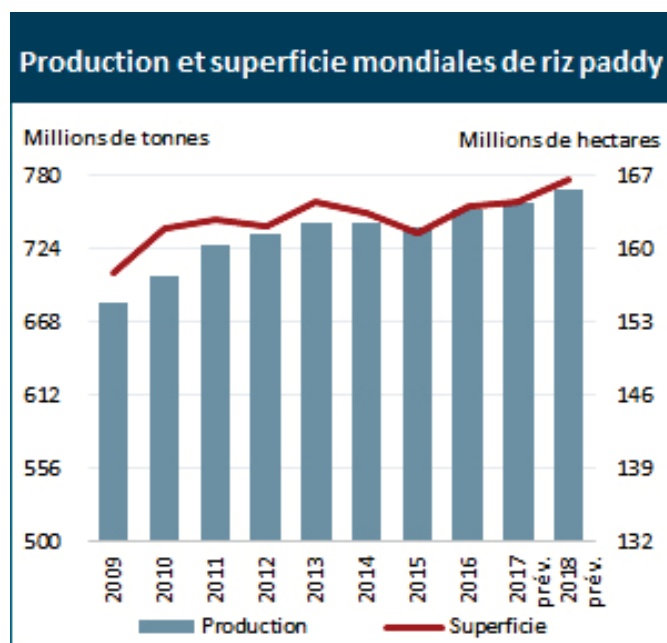


Figure 8. Production et superficie mondiales de riz paddy entre 2009 et 2018.

Suivi du marché du riz de la FAO, Avril 2018 (<http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/riz/fr/>)

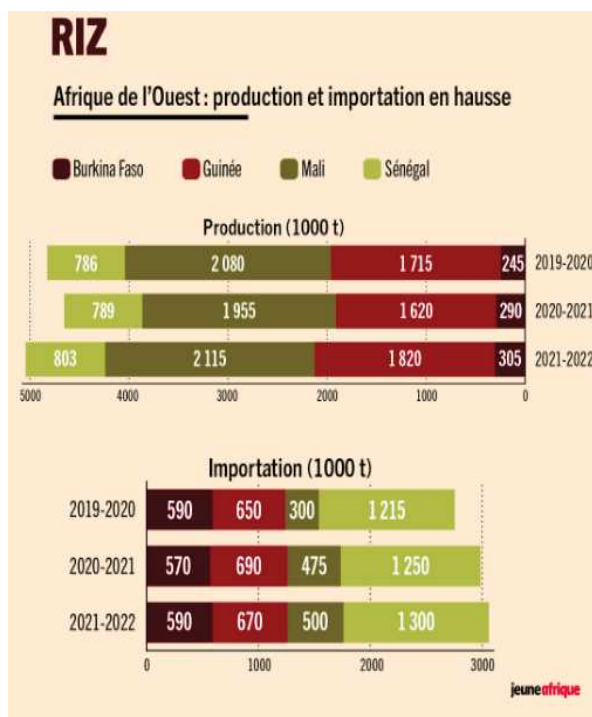


Figure 9. Production et importation du riz en Afrique de l'ouest.

source: <https://www.jeuneafrique.com/1211142/economie/riz-cacao-cafe-coton-lafrique-de-louest-face-a-la-flambee-des-cours/>

exportateurs de riz sont les États-Unis, l'Inde, le Pakistan, la Thaïlande et le Vietnam. La consommation mondiale de riz estimée pour 2020-2021 s'élève à 513 millions de tonnes, pour une consommation par habitant de près de 54 kg par an (FAO 2021). En Afrique de l'Ouest cette année la production de riz s'est vue diminuée, notamment en Guinée et au Mali, tandis que l'importation y était en hausse. Les prévisions pour l'année suivante prédisent cependant une nouvelle augmentation de la production et de l'importation du riz dans les divers pays d'Afrique de l'Ouest (Figure 9). Dans cette région de l'Afrique l'autosuffisance en riz est un sujet qui fait beaucoup parler ces dernières années. Bien que le Nigeria ait réduit de façon significative ses importations entre 2013 et 2019, il reste encore des efforts à faire en matière d'investissements pour amener son agriculture à produire suffisamment afin de parvenir à l'autosuffisance alimentaire. Côté Mali, une quasi-autonomie a réussi à être maintenue avec plus de 3 millions de tonnes de riz produites en 2018, selon la FAO. Concernant le Sénégal et la Côte d'Ivoire, depuis une dizaine d'années maintenant, une stratégie nationale portant sur la culture du riz a été adoptée, permettant de rééquilibrer le ratio importations/production nationale au Sénégal de 80%-20% à 55%-45% en 2018 (<https://www.jeuneafrique.com/mag/1033825/economie/nigeria-senegal-mali-quelles-strategies-pour-atteindre-lautosuffisance-alimentaire/>). Aujourd'hui, un grand nombre de menaces mettent en danger les cultures de riz causant de lourdes répercussions sur les rendements. Parmi elles, on retrouve différents stress biotiques (virus, bactéries, champignons, herbivores, insectes, ...), mais aussi une panoplie de stress abiotiques (sécheresse, inondation, pollution des sols en métaux, ...). Ces menaces représentent un enjeu majeur pour la sécurité alimentaire mondiale, il devient donc indispensable de combiner nos connaissances en science du végétale et en pratiques agricoles pour éviter ces énormes pertes de rendement.

2. Le genre *Oryza*

a) Généralités

Le riz, tel qu'on le connaît, est une monocotylédone de la famille des Poacées, principalement cultivée dans les zones tropicales, subtropicales et tempérées chaudes. Cette famille est divisée en deux clades, PACMAD (*Panicoideae*, *Aristidoideae*, *Chloridoideae*, *Micrairoideae*, *Arundinoideae* et *Danthonioideae*) et BOP (*Bambusoideae*, *Oryzoideae*, *Pooideae*), et comprend environ 12 000 espèces, dont des espèces cultivées telles que le sorgho, le maïs, le blé et le riz. La sous-famille des *Oryzoideae* se compose elle-même de quatre tribus (*Streptogyneae*, *Ehrharteae*, *Phyllorachideae*, *Zizaniinae* et *Oryzinae*) dont l'une d'elle, *Oryzinae*, héberge les genres *Oryza* et *Leersia*, très proches taxonomiquement (Soreng et al. 2015).

Le genre *Oryza*, auquel appartient le riz, comprend 27 espèces dont les deux seules cultivées à l'heure actuelle sont *O. glaberrima* et *O. sativa*, domestiquée respectivement en Afrique et en Asie.

Ces 27 espèces d'*Oryza* comprennent 11 types de génomes différents, dont six sont diploïdes ($n = 12$: AA, BB, CC, EE, FF et GG) et cinq sont polyploïdes ($n = 24$: BBCC, CCDD, HHJJ, HHKK et KKLL). Parmi ces espèces huit possèdent un génome AA : les espèces sauvages *O. longistaminata*, *O. meridionalis*, *O. glumaepatula*, *O. barthii*, *O. nivara* et *O. rufipogon*, et les deux espèces cultivées *O. glaberrima* et *O. sativa* (Stein et al. 2018). Même si des barrières d'hybridation sont présentes entre ces différentes espèces, il arrive que le croisement interspécifique soit possible si des conditions favorables sont réunies. Par conséquent, la diversité des espèces possédant le génome A procure une ressource génétique importante, que l'on peut exploiter pour l'amélioration variétale.

b) Caractéristique des deux espèces cultivées

- *Oryza glaberrima*

En Afrique de l'Ouest, le riz sauvage *O. barthii* a été domestiqué de manière indépendante, par rapport à *O. sativa*, pour devenir le riz cultivé *O. glaberrima* il y a environ 3 000 ans (Vaughan et al. 2008). Deux grandes hypothèses contradictoires ont été proposées concernant sa domestication en Afrique. La première hypothèse, émise par Porter en 1962, propose une domestication centrée, géographiquement localisée, le long du fleuve Niger, suivie de deux événements de diversification secondaire : l'un le long de la côte de ce qui est aujourd'hui le Sénégal et la Gambie, et l'autre dans les hautes terres de Guinée (Porter 1962). C'est ce qu'on a appelé le "modèle de transition rapide". L'autre hypothèse, émise par Harlan en 1976, propose que le riz africain et d'autres cultures telles que le sorgho et le millet perlé ont subi une domestication graduelle et parallèle dans différentes régions d'Afrique, géographiquement diffuse, non-centrée par opposition à la domestication centrée, et ont donc eu des origines multiples. Selon sa théorie, la domestication du riz africain a suivi un "modèle de transition prolongée" par opposition au "modèle de transition rapide" (Fuller 2007; Allaby et al. 2008; Meyer et al. 2016; Purugganan 2019).

O. glaberrima possède une diversité génétique moindre, en comparaison à *O. sativa*, dû notamment à deux goulots d'étranglement (Orjuela et al. 2014; Wang et al. 2014b). Le premier ayant eu lieu lors de la divergence des espèces asiatiques et africaines, et le deuxième lors du processus de domestication. On retrouve cependant des variations génétiques qui traduisent une diversité de morphologies adaptées à des conditions écologiques différentes, avec notamment des variétés flottantes et des variétés pluviales de plaine ou de montagne (Semon et al. 2005). D'une manière générale, *O. glaberrima* présente des grains de petite taille, en forme de poire, avec un son rouge et une enveloppe de graine d'une couleur allant de l'olive au noir, des panicules droites et simplement ramifiées, et des ligules courtes et arrondies, cependant certaines variétés d'*O. glaberrima* peuvent avoir des ligules pointues (Linares 2002). Dans l'ensemble, les rendements d'*O. glaberrima* sont

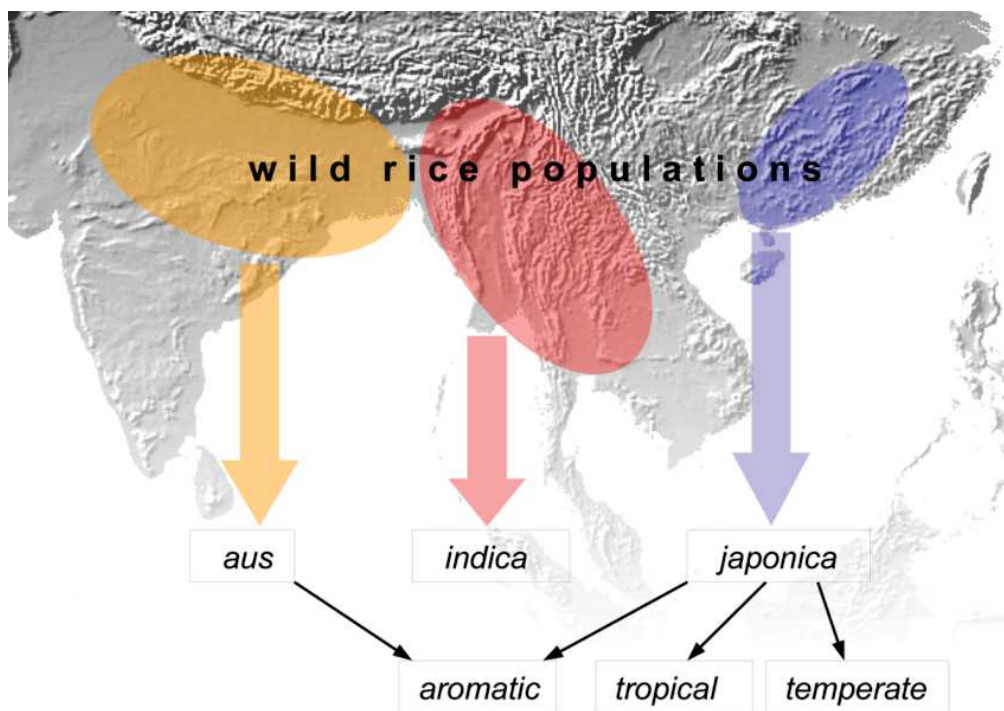


Figure 10. Schéma de l'origine du riz domestiqué d'après (Civan et al. 2015).

Les sous-espèces d'*Oryza sativa indica*, *japonica* et *aus* proviendraient de domestications dans des lieux différents (Sud-Est et Sud de l'Asie). Selon Civan et ses collaborateurs (2015) c'est l'hybridation ultérieure entre les sous-espèces *japonica* et *aus* qui aurait donné le riz *aromatic*, et les deux versions de *japonica* : tempérée et tropicale, seraient apparues plus tardivement.

plus faibles que ceux d'*O. sativa*, toutefois l'espèce *O. glaberrima* se fait remarquer par sa capacité d'adaptation à la sécheresse, à la toxicité en fer et aux sols infertiles, mais aussi par une meilleure résistance aux maladies et aux insectes ravageurs (Linares 2002; Albar et al. 2003). Aujourd'hui la culture d'*O. sativa* a remplacé quasiment la totalité des cultures d'*O. glaberrima* en Afrique, cependant cette dernière prospère dans un contexte plus traditionnel où elle est utilisée dans des offrandes rituelles pour honorer les ancêtres, plutôt que pour la consommation (Van Andel 2010).

- *Oryza sativa*

Le riz *O. sativa* provient de la domestication de l'espèce de riz sauvage *O. rufipogon* qui aurait eu lieu il y a environ 9 000 ans (Vaughan et al. 2008). Cependant, l'histoire de sa domestication est un domaine controversé (Gross and Zhao 2014). Selon Huang et ses collaborateurs (2012) le riz *O. sativa* ssp. *japonica* aurait été domestiqué pour la première fois à partir d'une population spécifique d'*O. rufipogon* autour de la zone centrale de la rivière des Perles dans le sud de la Chine, et le riz *O. sativa* ssp. *indica* aurait ensuite été développé à partir de croisements entre le riz *japonica* et le riz sauvage local lorsque les cultivars initiaux se sont répandus dans le sud-est et le sud de l'Asie. Comme la domestication est supposée s'être produite une fois dans une seule sous-population et s'être propagée aux autres sous-populations par hybridation, cette domestication est définie comme le modèle de domestication unique *de novo* avec introgression (Huang et al. 2012). D'un autre côté Civán et ses collaborateurs (2015) soutiennent que des domestications distinctes auraient donné les types de riz *indica*, *japonica* et *aus*, ces domestications ayant eu lieu dans différentes régions du sud-est et du sud de l'Asie. L'hybridation ultérieure entre le *japonica* et l'*aus* aurait donné le riz *aromatic*, et les versions "tempérée" et "tropicale" du *japonica* auraient évolué ultérieurement (Figure 10, (Civán et al. 2015).

O. sativa compte aujourd'hui cinq sous-populations (*indica*, *aus*, *aromatic*, *japonica tempérée* et *japonica tropicale*) (Garris et al. 2005). Cette espèce se caractérise par une pilosité des glumelles (absente chez *O. glaberrima*), des panicules retombantes avec des ramifications secondaires, et des ligules larges, cependant certaines variétés d'*O. sativa* ont également des grains en forme de poire avec un son rouge (Linares 2002). C'est aux alentours du 16^e siècle que les premières variétés de riz asiatiques ont été introduites sur le continent Africain par les navigateurs portugais (Sweeney and McCouch 2007). Depuis, les cultures de riz asiatiques ne cessent de prendre de l'envergure en Afrique de l'Ouest, et remplacent indéniablement la quasi-totalité des cultures de riz africains.

3. Les ressources génétiques et génomiques disponibles

Le riz est considéré comme une espèce modèle pour les céréales, à la fois car son génome est relativement petit et parce qu'il est étudié depuis très longtemps. La taille de son génome est de 400

à 430 millions de paires de bases (Mbp), bien plus petite que des céréales telles que le blé ou le maïs, mais trois fois celle d'*A. thaliana* (Arumuganathan and Earle 1991). Grâce à la relative conservation de l'agencement et de la composition des gènes entre les espèces, les travaux menés sur le génome modèle d'*O. sativa* bénéficient aux autres céréales cultivées, en particulier le blé et le maïs. De plus, outre le fait que le riz soit un modèle génomique, il possède aussi un intérêt agronomique mondial puisqu'il fait partie de l'alimentation de base de près de la moitié de la population mondiale.

a) Ressources génétiques

On estime qu'il existe plus de 140 000 variétés d'*O. sativa*, y compris des variétés primitives ("landraces") et des variétés améliorées (Jackson 1995), constituant une composante importante du patrimoine génétique du riz.

L'IRRI (International Rice Genebank) abrite le plus grand dépôt de diversité génétique du riz au monde, avec plus de 132 000 accessions de riz sauvages et cultivés provenant du monde entier (<http://irri.org/our-work/research/genetic-diversity/international-rice-genebank>), qui participent à l'amélioration des cultivars de riz.

Une partie des variétés d'*O. glaberrima* et *O. barthii*, provenant d'une collection de plus de 3 000 accessions, a été regroupée à l'IRD de Montpellier afin d'être analysée (Orjuela et al. 2014).

Jung et ses collaborateurs (2008), dans le but de caractériser la grande quantité de gènes de l'espèce *O. sativa* dont les fonctions sont encore inconnues, ont créé environ 500 000 lignées mutantes, le total combiné de cinq populations mutantes, possédant une à dix copies de mutations par lignée. Si les insertions étaient réparties uniformément dans le génome, on pourrait prévoir que cette collection de mutants cible 99 % des loci du riz (Jung et al. 2008).

Par ailleurs, les espèces sauvages de riz contiennent de nombreux traits agronomiques utiles mais une grande majorité de ces traits restent inexploités à ce jour car ils n'ont pas encore été tous identifiés, mais aussi car il est souvent difficile de les transférer dans le riz cultivé (*O. sativa* L.). Dans le but de détecter des gènes ou QTL d'intérêt et de les introduire dans les variétés cultivées, diverses lignées d'introgession et recombinantes ont été générées, représentant un matériel génétique puissant de détection :

- Les **NIL ("Near Isogenic Lines")** sont des lignées quasi-isogéniques qui sont souvent le produit de programmes de sélection végétale dont l'objectif est l'introgession d'un caractère ou d'un trait (gène) souhaitable d'un parent donneur. Les lignées quasi-isogéniques sont générées par un processus de rétro-croisement répété avec sélection du caractère souhaité à

chaque cycle de croisement. Par exemple les lignées de type IRBB sont obtenues à partir de rétro-croisements successifs entre des variétés donneuses portant des gènes de résistance à *X. oryzae* pv. *oryzae* (gènes *Xa*) d'intérêt et la variété récurrente universellement sensible IR24 (sous-espèce *indica*). Les IRBB ne se différencient d'IR24 que par la région qui porte le gène d'intérêt.

➤ Les **RIL ("Recombinant Inbred Lines")** sont des lignées consanguines produites par autofécondation, à partir d'individus F_2 dérivés du croisement entre deux lignées parentales. Le génome de chaque lignée est un réassortiment aléatoire des génomes des deux lignées parentales, en proportions statistiquement égales, fixé à l'état homozygote. Les inconvénients des RIL sont qu'il faut au moins six générations pour obtenir une lignée consanguine et, qu'il est impossible d'estimer les effets de dominance des loci à effet quantitatifs (QTL) cartographiés en raison de l'absence de génotypes hétérozygotes. Cependant, l'avantage des RIL est que, parce qu'elles ne sont composées que d'homozygotes, elles sont stables et peuvent donc être utilisées dans des expériences avec des répliqués dans plusieurs environnements, ce qui permet des estimations plus précises des composantes génétiques et l'identification des interactions entre les QTL et l'environnement. De plus, comme plusieurs cycles de méiose se produisent pendant le développement de ces lignées, il existe des possibilités de recombinaison entre des loci étroitement liés (Silva et al. 2007).

➤ Les **CSSL ("Chromosome Segment Substitution Lines")** sont une série de lignées d'introgression produites par le croisement et le rétro-croisement d'un parent donneur et d'un parent receveur. Chaque CSSL porte un ou plusieurs segments de chromosomes du parent donneur dans le fond génétique du parent récurrent, éliminant ainsi le bruit de fond génétique. L'ensemble des lignées couvre alors toute l'information du génome du parent donneur dans le fond génétique du parent receveur. L'utilisation des CSSL permet la détection de QTL avec des effets mineurs additifs qui sont toujours masqués dans les populations primaires F_2 ou RIL (Ali et al. 2010).

Dans le programme de croisement pour développer des lignées CSSL de riz, le parent récurrent, qui est généralement une espèce cultivée, est utilisé comme femelle, tandis que le parent donneur, généralement une espèce sauvage, est utilisé comme mâle afin d'éviter la stérilité cytoplasmique dans les générations suivantes (Ali et al. 2010). En plus d'être un outil efficace pour l'introgression de gènes d'espèces sauvages vers les espèces cultivées et le transfert ultérieur de gènes vers des cultivars commerciaux, les CSSL ont été utilisés pour

l'introgession de gènes d'une sous-espèce à l'autre, en particulier entre les groupes variétaux *indica* vers *japonica* et inversement.

- Les populations de type **BIL ("Backcross Inbred Lines")**, comme les CSSL, peuvent être utilisées pour introduire des gènes d'intérêt provenant d'espèces sauvages dans le fond génétique de riz cultivés. Les populations de type BIL ne sont pas développées avec le concept de couvrir le génome entier du donneur, contrairement aux populations CSSL qui sont fondamentalement conçues pour récupérer le génome entier du donneur. Les BIL sont caractérisées par une faible proportion de parent donneur dans chaque lignée et elles sont bien adaptées à la cartographie de la variation interspécifique. Comme chaque lignée ne porte qu'une petite fraction du génome de l'espèce sauvage, la plupart des problèmes de fertilité peuvent être éliminés et les traits associés au rendement peuvent être mesurés (Eshed and Zamir 1995). Le développement de BIL, comme celui de CSSL, implique le croisement de l'espèce sauvage contenant les gènes d'intérêt avec un parent cultivé. L'hybride F1 est rétro-croisé avec le parent cultivé et les plantes BC1F1 produites sont rétro-croisées avec le parent cultivé pour générer des plantes BC2F1, etc.
- Les populations de type **MAGIC ("Multi-parent Advanced Generation Inter-Cross")** sont générées en croisant n lignées pendant $n/2$ générations jusqu'à ce que toutes les variétés fondatrices soient combinées avec des proportions égales dans les croisements. Cette ressource puissante capture donc la diversité génétique de plusieurs variétés qui ont été recombinaisonnées sur plusieurs générations pour créer une population avec une grande diversité phénotypique idéale pour la cartographie à haute résolution de QTL d'intérêt. Ce type de population est souvent utilisée pour les études de génomique d'association, aussi appelées GWAS ("Genome-Wide Association Study"), permettant d'étudier un grand ensemble diversifié de génomes (Bandillo et al. 2013; Raghavan et al. 2017). Les populations de type MAGIC ont un double objectif : des populations de cartographie permanente pour la cartographie précise des QTL et une utilisation directe et indirecte dans le développement des variétés. Contrairement à un ensemble de germplasmes naturellement diversifiés, cette population est faite sur mesure pour les sélectionneurs avec une combinaison de traits utiles dérivés de multiples lignées de sélection d'élite. Les populations de type MAGIC offrent également la possibilité d'étudier les interactions entre les introgressions génomiques et la recombinaison chromosomique (Bandillo et al. 2013).

b) Ressources génomiques

- Séquençage de génomes de riz

En 1997, "the International Rice Genome Sequencing Project" (IRGSP), qui regroupe 11 nations, commence le séquençage du génome de la variété de riz *O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare, choisi comme modèle commun pour l'ensemble des pays de l'IRGSP. Ce séquençage est effectué, selon l'approche "clone-by-clone", aussi appelée "mapped clone sequencing strategy". Elle consiste au séquençage de longs fragments d'ADN principalement à partir de banques génomiques de BAC ("Bacterial Artificial Chromosomes") ou PAC ("P1-derivative Artificial Chromosomes"). Chaque séquence est rendue disponible sur des bases de données publiques, même si non annotée, comme "DNA Data Bank of Japan" (DDBJ), GenBank ou encore "the European Molecular Biology Laboratory" (EMBL) (Sasaki and Burr 2000).

En 2002, grâce à une même approche de "whole-genome shotgun sequencing", deux équipes séquencent respectivement le génome d'*O. sativa* L. ssp. *indica* 93-11 (Yu et al. 2002) et d'*O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare (Goff et al. 2002). Ces deux premières publications des séquences génomiques du riz ont ouvert la voie à tous les efforts futurs. Depuis, ces génomes ont été améliorés avec l'arrivée de nouvelles techniques de séquençage, comme par exemple le séquençage par Illumina (Kawahara et al. 2013) et PacBio (Zhang et al. 2018).

Au cours des années 2014 et 2015 les génomes de deux variétés d'*O. glaberrima* ainsi que ceux des espèces sauvages *O. barthii*, *O. nivara*, *O. meridionalis*, *O. punctata*, *O. rufipogon*, *O. glumaepatula* et *O. brachyanta* ont été mis à disposition sur la base de données Ensembl (<https://plants.ensembl.org/>) (Jacquemin et al. 2013; Cunningham et al. 2015; Kersey et al. 2016). Depuis avril 2022 cette plateforme regroupe 122 génomes de plantes.

En 2012, "the International Rice Genomics INitiative" (IRIGIN) coordonné par l'IRD, en collaboration avec le CIRAD, le CIAT (Colombie, centre du CGIAR) et l'AfricaRice (organisme panAfricain du CGIAR), le tout au sein du Mégaprogramme GRiSP (Global Rice Science Partnership, CGIAR) est mis en place. L'IRIGIN est la contribution française au programme de séquençage massif des riz, initié par l'IRRI ("International Rice Research Institut", Philippines, centre du CGIAR) et le BGI ("Beijin Genomic Institut", Chine) qui ont réalisé le séquençage de 3 000 variétés de riz asiatiques. L'IRIGIN est un programme qui vise à fournir un large éventail de ressources génomiques pour les riz africains cultivés et sauvages, ainsi que pour diverses lignées de riz asiatiques présentant un intérêt agronomique ou scientifique (<https://www.france-genomique.org/projet/irigin-international-rice-genome-initiative/>). Le séquençage de nombreux génomes de riz permet l'identification de plusieurs millions de SNP, qui peuvent être visualisés via diverses plateformes.

- Visualisation des SNP chez *O. sativa*

Plusieurs outils de visualisation des SNP dans les génomes du riz ont été mis en place afin de faciliter l'étude de cette céréale; ci-dessous une liste d'exemples des ressources disponibles.

Le projet OryzaSNP (www.OryzaSNP.org) a été lancé dans l'idée de découvrir les variations génétiques au sein de 20 variétés de riz (au départ), appartenant principalement aux sous-espèces *japonica* et *indica*. Ce projet a pour but de déterminer la variation en SNP présente au sein de 100 Mb de génome de riz, représentant environ 80% de portion non répétitives des 390 Mb du génome de référence Nipponbare. OryzaSNP a permis la découverte de 159 478 SNP non redondants répartis au sein des génomes présents dans le jeu de données OryzaSNP (McNally et al. 2009).

La base de données HapRice (<http://qtaro.abr.affrc.go.jp/index.html>) permet de visualiser la fréquence allélique de tous les SNP présents dans 76 accessions de la collection mondiale de riz (3 334 SNP) et dans 177 accessions de riz japonais (3 252 SNP). Au sein de cette base de données des outils web pour trouver des SNP polymorphes entre deux accessions de riz et pour concevoir des amorces afin de développer des marqueurs de séquences polymorphes à n'importe quel SNP, ont été développés (Yonemaru et al. 2014).

RiceVarMap ("Rice Variation Map", <http://ricevarmap.ncpgr.cn>) est une base de données des variations génomiques du riz. La base de données fournit des informations complètes sur 6 551 358 SNP et 1 214 627 insertions/délétions (InDel) identifiés à partir des données de séquençage de 1 479 accessions de riz. La base de données fournit également des détails géographiques et des images de phénotypes pour diverses accessions de riz. De plus, elle fournit des outils pour construire des réseaux d'haplotypes et concevoir des amorces PCR en tenant compte des variations génomiques connues environnantes. Ces données et outils sont très utiles pour explorer les variations génétiques et pour les études d'évolution du riz et d'autres espèces (Zhao et al. 2015).

- Bases de données regroupant l'accès aux ressources génétiques et génomiques du riz

Le projet OMAP (*Oryza* Map Alignment Project) a été mis en place par Wing et ses collaborateurs (2005) dans le but de libérer le potentiel génétique du riz sauvage. Pour cela les BAC/STC de 11 espèces de riz sauvage et du génome de référence *O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare ont été utilisés pour construire et aligner les cartes physiques de ces 12 génomes, afin de comparer leur organisation génomique. Les 11 espèces de riz sauvage comprennent 9 types de génomes différents et incluent 6 génomes diploïdes (AA, BB, CC, EE, FF et GG) et 4 génomes tétraploïdes (BBCC, CCDD, HHKK et HHJJ) avec une large distribution géographique et une adaptation écologique (Wing et al. 2005).

Gramene (<http://www.gramene.org>) est un portail unique permettant de trouver de la documentation, des ensembles de données génétiques et génomiques liés à des cartes, des

marqueurs, des gènes, des génomes et des loci à caractères quantitatifs, sur plusieurs graminées de la famille des Poacées (e.g. le riz, le maïs, le sorgho, le blé ou encore l'orge). Plusieurs outils sur Gramene facilitent le potentiel d'analyse comparative entre les graminées et contribuent à notre compréhension de l'anatomie, du développement, des réponses environnementales et des facteurs influençant la performance agronomique des cultures céréalières (Jaiswal et al. 2006).

OryGenesDB (<http://orygenesdb.cirad.fr/>) est une base de données dédiée à la génétique inverse du riz, sur laquelle des mutants d'insertion des gènes du riz y sont catalogués. Cette base de données contenait déjà 44 166 mutants en 2006 (Droc et al. 2006).

Oryzabase est une base de données contenant des informations sur le développement et l'anatomie du riz, les mutants du riz et les ressources génétiques, notamment pour les variétés sauvages de riz (Kurata and Yamazaki 2006).

Il existe aussi le "Rice Genome Annotation Project" (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) qui permet de visualiser les différents chromosomes des génomes de riz d'*O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare et d'*O. sativa* ssp. *indica* 93-11, ainsi que les gènes qui y sont annotés.

c) Amélioration variétale

Comme dit précédemment, *O. glaberrima* est aujourd'hui généralement cultivée en Afrique de l'Ouest, sur de petites surfaces, en raison de son rendement plus faible par rapport à *O. sativa*. Pourtant, elle est plus adaptée aux conditions de culture rustiques africaines que *O. sativa* (Linares 2002) et présente de multiples résistances et tolérances à différents stress biotiques comme abiotiques (Linares 2002; Albar et al. 2003). Ainsi, malgré son faible niveau supposé de diversité génétique, *O. glaberrima* est un outil très précieux pour l'amélioration de *O. sativa*, par le biais de l'hybridation interspécifique. Cependant, une forte barrière de stérilité, principalement dirigée par le locus S_I (Sano 1990; Garavito et al. 2010), existe entre ces deux espèces divergentes, ce qui complique l'utilisation d'*O. glaberrima* dans la sélection d'*O. sativa*. Néanmoins, il est possible d'obtenir des variétés hybrides fertiles par sauvetage d'embryons ou par fertilisation manuelle et rétro-croisement, comme cela a été fait pour la production des variétés NERICA (NEw RICE for Africa, (H. Gridley 2002). Les variétés NERICA sont devenues le premier succès à grande échelle du croisement des deux espèces cultivées. Il en existe deux types: les NERICA de plateau (upland) et les NERICA de bas-fond (lowland, NERICA-L), adaptés aux environnements pluviaux ou irrigués. Au total, il existe maintenant 82 variétés NERICA, 18 variétés de plateau, 60 variétés de bas-fond pluvial et 4 variétés irriguées. Les variétés NERICA pour les différentes écologies de riz constituent un bien public international important. En général, ces variétés ont une durée de croissance plus courte que les variétés existantes, ce qui permettrait aux cultures de riz d'échapper à la sécheresse qui a un impact négatif sur le rendement. Elles faciliteraient également la pratique de

systèmes de culture diversifiés en rotation avec les cultures de riz, tels que la culture de riz-légumineuse, la culture de riz de couverture et d'autres systèmes similaires, afin de maintenir la fertilité du sol et donc le rendement du riz pluvial (Nguyen VN 2003). Les premières variétés NERICA ont été homologuées en Côte d'Ivoire en 2000. Le développement des NERICA de plateau a valu à l'AfricaRice¹ plusieurs récompenses internationales, dont le Prix mondial de l'alimentation décerné en 2004 à Monty Jones (<https://www.africarice.org/nerica>).

Le germplasma des riz cultivés, comme dit précédemment, peut aussi être élargi par l'hybridation des cultivars avec des espèces sauvages, des variétés primitives ainsi que par des croisements intra-sous-spécifiques afin d'augmenter le potentiel de rendement du riz. Voici quelques exemples de croisements et/ou d'introgessions de gènes ayant permis l'amélioration du riz :

- Xiao et ses collaborateurs (1996) ont signalé que certains rétro-croisements, résultant d'un croisement entre une accession d'*O. rufipogon* de Malaisie (IRGC 105491) et une variété de riz cultivé (V20A), ont donné un rendement supérieur de 18 % au parent récurrent (Xiao et al. 1996).
- Les gènes *Bt*, provenant de la bactérie *Bacillus thuringiensis*, codant pour des toxines, ont été introduits dans le riz pour lutter contre le foreur jaune de la tige ("yellow stem borer"), un insecte très répandu en Asie (Datta et al. 1997). Xu et ses collaborateurs (1996) ont signalé que le riz transgénique portant le gène du niébé inhibiteur de la trypsine (*Cpti*) présentait une résistance accrue au foreur de la tige ("steam borer") et au foreur de la tige rose ("pink stem borer") (Xu et al. 1996).
- Des gènes de résistance à la pyriculariose et à la bactériose du riz ont été transférés d'une accession de riz sauvage d'*O. minuta* (Acc 101141) pour améliorer le germplasma du riz cultivé *O. sativa* (IR31917-45-3-2) (Brar and Khush 1997). Les gènes *ots A* et *ots B* de la biosynthèse du tréhalose, provenant d'*Escherichia coli*, ont été introduits dans le riz et les lignées de riz transgéniques avaient une tolérance accrue aux stress abiotiques tels que la sécheresse et la salinité (Garg et al. 2002).
- En 2003, Potrykus a rapporté le développement réussi d'un riz génétiquement modifié qui contient plus de provitamine A (communément appelé "riz doré"). En utilisant des techniques de transformation médiées par *Agrobacterium* il a transféré des gènes de jonquille (*Narcissus pseudonarcissus*) et de la bactérie *Erwinia uredovora* au riz (Potrykus

¹ AfricaRice, anciennement connu sous le nom d'Association pour le développement de la riziculture en Afrique de l'Ouest, est une association intergouvernementale panafricaine et une organisation de recherche du CGIAR, dont le siège est actuellement à Abidjan, en Côte d'Ivoire.

2003). De même, le gène de la ferritine du soja a été transféré dans le riz pour augmenter sa teneur en fer (Goto et al. 1999).

- Les plantes C4 telles que le maïs et le sorgho sont plus productives que le riz et le blé C3 car les plantes C4 sont 30 à 35% plus efficaces dans la photosynthèse. Depuis 2001, Matsuoka et ses collaborateurs essaient de modifier la photosynthèse du riz de la voie C3 à la voie C4 en introduisant des gènes clonés du maïs dans le riz. En cas de succès, le potentiel de rendement du riz pourrait augmenter de 30 à 35 % (Matsuoka et al. 2001).

4. Les menaces des cultures de riz

La croissance continue de la population, donc de la consommation, impose d'énormes demandes au niveau des ressources naturelles. Il devient nécessaire d'augmenter la production agricole pour répondre aux besoins alimentaires futurs (Godfray et al. 2010; Foley et al. 2011; Palmgren et al. 2015). Une solution pour augmenter la production alimentaire, sans augmenter la surface cultivée, et sans dégrader les terres, l'eau et la biodiversité, serait l'introgession dans les cultures de gènes de résistance connus pour lutter contre les stress biotiques et abiotiques auxquelles elles sont exposées.

a) Stress abiotiques

L'eau, de par sa trop grande présence ou son absence, constitue le principal facteur de menace des production. Bien que le riz soit considéré comme une culture tolérante aux inondations, seuls quelques cultivars présentent une tolérance à une submersion prolongée (Niroula et al. 2012), la plupart mourant dans les 14 jours suivant une submersion complète. D'un autre côté, la sécheresse cause aussi d'énormes dommages sur les plantes (Krannich et al. 2015), en particulier chez le riz, qui y est sensible car il est acclimaté à des champs soit pluviaux, soit entièrement irrigués. L'effet de la sécheresse peut varier en fonction des différents génotypes, des stades de développement, de la température et de la durée du stress (Wang et al. 2011). La **salinité** est aussi l'un des stress abiotiques les plus dévastateurs pour le riz, et les sols affectés par le sel représentent actuellement environ 20 % de la surface totale de plantation de riz paddy (Zhou et al. 2016). La salinité du sol a des effets négatifs sur la germination, la résistance aux maladies et le rendement des plantes (Munns and Tester 2008). Le **stress dû au froid** est l'un des principaux facteurs environnementaux limitant la croissance, la productivité et la distribution géographique des cultures, principalement dans les zones tempérées et de haute altitude, en raison de l'origine tropicale du riz cultivé (Cruz et al. 2013; Zhang et al. 2014). Les basses températures peuvent affecter la croissance et le développement des plants de riz à tous les stades de développement, de la germination au remplissage des grains. Les basses températures qui surviennent aux stades critiques de la reproduction peuvent nuire à la qualité des grains (maturation incomplète des grains) ou entraîner des baisses de rendement (Jena et

al. 2012; Cruz et al. 2013; Zhang et al. 2014). Les cultures de riz peuvent aussi être soumises à d'autres stress, tels que les fortes températures ou encore le manque de nutriments, que je ne décrirai pas ici.

b) Stress biotiques

Les plantes sont confrontées à de nombreux types de stress biotiques causés par différents organismes vivants comme les champignons, les bactéries, les nématodes, les insectes et les virus. Ces agents de stress biotique provoquent divers types de maladies, d'infections et de dommages aux plantes cultivées et affectent finalement la productivité des cultures.

Chez le riz la **pyriculariose**, causée par l'agent pathogène *Magnaporthe oryzae* appartenant à la division des Ascomycètes, est une des maladies du riz causant les plus grandes pertes de rendement. Ce champignon hémibiotrophe s'attaque aux parties aériennes de la plante et cause des symptômes foliaires en forme de losanges, grisâtre au centre et brun sur les bords. Ces lésions affectent la capacité photosynthétique de la plante et leur évolution entraîne le dessèchement et la mort des feuilles infectées (Liu et al. 2014).

Les **nématodes** se nourrissent des plantes et provoquent principalement des maladies transmises par le sol qui entraînent une carence en nutriments, un retard de croissance et un flétrissement (Lambert and Bekal 2002; Bernard et al. 2017; Osman et al. 2020). *Meloidogyne incognita* est un **nématode à galle** de la famille des Heteroderidae qui parasite les racines de riz et provoque de fortes pertes de rendement notamment au Brésil, au Bénin et au Vietnam. Au niveau du site d'infection, ce nématode induit la formation de cellules géantes au niveau desquelles il se nourrit et se reproduit (Bellafiore and Briggs 2010).

Concernant les **acariens** et les **insectes**, ces derniers altèrent les plantes en s'en nourrissant (en les perçant et en les suçant) ou en y pondant des œufs. Les insectes peuvent également être porteurs d'autres virus et bactéries. Par exemple la **cicadelle verte orientale du riz**, nommée *Nephotettix* spp., transmet la **maladie virale du tungro**. Le virus conduit à la décoloration des extrémités des feuilles, un tallage réduit, des plantes à la croissance ralentie et à la vigueur restreinte, et dans le pire des cas le flétrissement des plantes (Azzam and Chancellor 2002).

Par ailleurs, les **virus** et les **bactéries** sont également capables de dommages locaux et systémiques entraînant dans certains cas une chlorose et un rabougrissement pour l'un, et des nécroses foliaires pour l'autre (Niño-Liu et al. 2006; Pallas and García 2011). Le RYMV ("Rice Yellow Mottle Virus") est un virus à ARN appartenant au genre des sobémovirus qui cause la maladie de la **panachure jaune du riz** (Regenmortel et al. 2000). Le virus se transmet par voie mécanique et par le coléoptère *Sessilia pussila* (Hébrard et al. 1999). Les feuilles infectées présentent au départ des panachures jaunes qui à des stades plus avancés prennent une couleur orangée et entraînent un

dessèchement des tissus photosynthétique et la mort de la feuille. L'infection des parties végétatives entraîne un retard de croissance et affecte la formation des panicules (Thiemele et al. 2008). Parmi les maladies bactériennes du riz, l'espèce *Xanthomonas oryzae* ssp. fait partie des menaces majeures causant de grandes pertes de rendement. Au sein de cette espèce se retrouvent deux pathovars, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) et *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), causant respectivement la **bactériose à strie foliaire (BLS)** et la **bactériose vasculaire (BLB)** du riz. Cette dernière fait partie du top 10 des maladies bactériennes affectant les plantes (Mansfield et al. 2012), et sera détaillée dans le paragraphe VI. 1. b).

IV. Le genre *Xanthomonas*

1. Généralités

La première observation d'une bactérie du genre *Xanthomonas* fut rapportée en 1881 par Wakker, dans le cas de la maladie jaune des jacinthes ("yellows disease of hyacinths") (Starr 1981). De façon générale, le genre *Xanthomonas* comprend des bactéries à gram négatif, à la pigmentation jaune, qui interagissent avec les plantes. On dénombre environ 400 espèces de plantes pouvant être infectées par les bactéries du genre *Xanthomonas*, incluant une grande diversité de monocotylédones et de dicotylédones, dont de nombreuses cultures d'intérêt agronomique telles que le riz, le blé, la banane, la tomate, les agrumes, le coton ou encore le manioc (Jacques et al. 2016). Le genre *Xanthomonas* comprend environ 35 espèces et 80 pathovars. Au sein d'une espèce, les pathovars se distinguent par une gamme d'hôtes caractéristiques et/ou une spécificité de colonisation tissulaire (vasculaire ou parenchymatique). Par exemple, l'espèce *X. oryzae* infectant le riz comprend les deux pathovars *X. oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) et *X. oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*), qui envahissent le système vasculaire et les espaces intercellulaires du parenchyme respectivement (Niño-Liu et al. 2006).

2. Génomique et *Xanthomonas*

Les deux premiers génomes de *Xanthomonas* spp. ont été séquencés au début des années 2000 (da Silva et al. 2002). A l'heure actuelle, plus de 1 400 génomes de *Xanthomonas*, représentant toutes les espèces de *Xanthomonas* nommées, sont disponibles publiquement dans la base de données du "National Center for Biotechnology Information" (NCBI). Cette richesse de données génomiques a révolutionné notre compréhension de la taxonomie bactérienne et de l'évolution des pathogènes, ainsi que des facteurs contribuant à la virulence et à l'adaptation de l'hôte. La diversité des *Xanthomonas* peut être catégorisée à plusieurs niveaux, comprenant la **diversité génétique** au sein des populations et des espèces, et la **diversité fonctionnelle ou environnementale**, qui décrit leurs rôles dans les microbiomes des plantes.

- Diversité des populations et des espèces

Afin d'évaluer la diversité des populations, différentes méthodes ont été mises en place, allant de l'analyse de profil de RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism"), au séquençage du génome entier ("Whole Genome Sequencing", WGS), en passant par des approches de type MLVA ("Multiple Loci VNTR Analysis") et MLST ("MultiLocus Sequencing Typing"). L'analyse RFLP est une technique qui exploite les variations dans les séquences d'ADN homologues affectant les sites de reconnaissance des enzymes de restriction. L'analyse VNTR ("Variable Number Tandem Repeat") à loci multiples, ou MLVA, quant à elle, est une méthode d'analyse génétique qui exploite comme source de polymorphisme la variation du nombre de motifs de répétitions en tandem (micro ou minisatellites). Enfin, le typage par séquençage MLST, est une technique de référence qui permet de discriminer différentes souches en se basant sur le séquençage de "gènes de ménage" codant pour des protéines essentielles de la bactérie. Ces séquences ont la particularité de présenter un polymorphisme stable dans le temps et suffisant pour distinguer des souches entre elles. Ces diverses techniques permettent de garder un œil sur l'évolution des génomes à l'échelle d'une espèce, d'un pathovar, ou même encore d'une population entière.

Le contournement de gènes de résistance par une population bactérienne est un cas d'étude intéressant qui met en avant l'intérêt d'utiliser ces différents outils d'analyses pour traquer l'évolution des populations, et anticiper de futur contournement (Quibod et al. 2020). D'autre part, certains composants du génome tels que les séquences d'insertions, aussi appelées IS ("insertion sequences"), sont acteurs de la diversification des populations et des espèces. Les IS joueraient un rôle important dans l'instabilité du génome et la perte de fonction des gènes, comme le montre l'inactivité du gène *gumM*, qui intervient dans la production de xanthane, provoquée par une séquence d'insertion et qui a aboli la production de ce polysaccharide extracellulaire chez *X. oryzae* (Rajeshwari and Sonti 2000). En 2005, un total de 386 IS a été trouvé dans un seul génome de *X. oryzae*, indiquant une grande plasticité du génome de chaque souche (Ochiai et al. 2005). La comparaison du génome de la souche de *Xoo* PXO99^A avec ceux des souches de *Xoo* MAFF311018 (MAFF) et KACC10331 (KACC), ces deux dernières étant très similaires l'une à l'autre, a fourni des preuves directes que le génome de *Xoo* est très plastique et évolue rapidement (Salzberg et al. 2008). Le génome de PXO99^A code 19 effecteurs TAL et présente au moins 10 réarrangements chromosomiques majeurs par rapport aux souches KACC et MAFF, résultant en 29 blocs synténiques distincts. La plupart de ces réarrangements semblent être médiés par un ensemble d'éléments transposables.

La diversité intraspécifique et la spécialisation de l'hôte sont apparentes chez *X. citri* pv. *citri* (*Xci*), qui présente trois pathotypes : A, A* et A^w. Ces trois pathotypes ont une gamme d'hôtes variable : le

pathotype A a une large gamme d'hôtes, tandis que le pathotype A* n'infecte que *Citrus aurantifolia*, *C. latifolia* et *C. macrophylla*, et le pathotype A^w affecte *C. aurantifolia* et *C. macrophylla* (Escalon et al. 2013). Gordon et ses collègues (2015) ont réalisé une analyse de génomique comparative sur 43 souches de *Xci* qui n'a révélé qu'une variation extrêmement faible du contenu génétique; la plupart du contenu génétique variant était lié aux îlots génétiques et aux régions de recombinaison. Ces résultats indiquent le rôle joué par le transfert horizontal de gènes et la recombinaison pour l'évolution du contenu génétique de ces pathotypes en termes de gain et de perte de contenu génétique et de mutations (Gordon et al. 2015). Le gène *avrGf1* et son homologue *avrGf2* agissent comme un facteur de restriction de la gamme d'hôtes dans le pathotype A^w mais la délétion du gène *avrGf1* ne donne pas une gamme d'hôtes de type A à ce pathotype. Ceci indique que la présence ou l'absence d'autres facteurs est nécessaire pour expliquer la gamme d'hôtes de ces pathotypes.

- Génomique environnementale

L'analyse de génomique comparative des souches de *Xanthomonas* pathogènes et non pathogènes, qui coexistent dans la même plante hôte, peut donner plus d'informations sur les adaptations génomiques d'une souche non pathogène à un environnement particulier. Par exemple, une analyse du pangénome de souches de *Xanthomonas*, isolées de grains de riz sains, a permis d'identifier un certain nombre de gènes uniques qui sont partagés par *X. maliensis*, précédemment signalé comme ayant un mode de vie non pathogène, et les *Xanthomonas* pathogènes du riz (*X. oryzae*, (Triplett et al. 2015). Même si *X. maliensis* n'a pas de système de sécrétion de type 3 (SST3) et ses effecteurs associés qui sont retrouvés chez les *Xanthomonas* pathogènes, il porte des gènes codant d'autres systèmes de sécrétion, tels que le SST1, SST4 et SST6, indiquant certaines caractéristiques similaires aux *Xanthomonas* pathogènes. Par conséquent, *X. maliensis* est phylogénétiquement plus proche des isolats pathogènes que des isolats non pathogènes, tel que certaines souches de *X. arboricola* ou *X. cannabis* ne portant que 4 gènes régulateurs associés aux SST3, et les orthologues de 6 ET3, contre 24 orthologues trouvés dans les souches pathogènes (Jacobs et al. 2015; Garita-Cambronero et al. 2017). Ces observations suggèrent que *X. maliensis* est un intermédiaire possible dans l'évolution des souches pathogènes à partir des souches non pathogènes par l'acquisition de gènes qui sont habituellement présents dans les isolats pathogènes (Triplett et al. 2015).

3. Les déterminants du pouvoir pathogène

a) Les structures de surface des bactéries

Parmi les déterminants du pouvoir pathogène se retrouvent en première ligne, les structures de surface des bactéries telles que les exopolysaccharides (EPS), les lipopolysaccharides (LPS) et les adhésines (Figure 11).

Un des **exopolysaccharides caractéristiques** des *Xanthomonas* est le **xanthane**, qui donne cet aspect mucoïde aux colonies bactériennes. La production de xanthane est dirigée par plusieurs loci génétiques, y compris le groupe de gènes *gum*, qui consiste en 12 gènes (*gumB* à *gumM*) et est hautement conservé parmi les bactéries du genre *Xanthomonas* (Katzen et al. 1998; Vojnov et al. 1998). En raison de sa consistance hautement hydratée et anionique, le xanthane protège les bactéries des stress environnementaux (e.g. la déshydratation, les composés toxiques). Il a été démontré que les gènes *gum* de plusieurs *Xanthomonas* contribuent à la survie épiphytique et/ou à la croissance bactérienne *in planta* et à la formation de symptômes (Chou et al. 1997; Katzen et al. 1998; Dharmapuri and Sonti 1999; Kemp et al. 2004; Dunger et al. 2007; Rigano et al. 2007; Kim et al. 2009). Il est aussi intéressant de noter que la contribution du xanthane à la virulence peut dépendre de la plante hôte et des conditions environnementales (Dunger et al. 2007; Rigano et al. 2007). Des preuves expérimentales démontrent que le xanthane supprime également les réponses de défense basale des plantes telles que le dépôt de callose dans la paroi cellulaire de la plante (Yun et al. 2006; Aslam et al. 2008) et qu'il serait impliqué dans la formation de biofilms (Dow et al. 2003; Torres et al. 2007; Rigano et al. 2007). Ce biofilm servirait de protection contre les antibiotiques et les réponses de défense de l'hôte et pourrait contribuer à la survie épiphytique des bactéries avant que ces dernières colonisent l'espace intercellulaire des plantes (Stoodley et al. 2002).

Un autre facteur de virulence associé à la survie de *Xanthomonas* et d'autres bactéries phytopathogènes sont les **lipopolysaccharides (LPS)**, qui sont des composants majeurs de la membrane externe bactérienne et protègent la cellule des environnements hostiles. Chez *X. campestris* pv. *campestris* (*Xcc*), la synthèse du LPS est dirigée par le groupe de gènes *wxc*, qui comprend 15 gènes (Vorhölter et al. 2001). Une analyse comparative des séquences a révélé que les groupes de gènes LPS de différentes espèces de *Xanthomonas* varient en nombre et en identité de gènes et ont probablement été soumis à une forte sélection de diversification (génération de multiples allèles différents dans différentes espèces, pathovars et aussi différentes souches) (Lu et al. 2008). Des variations dans la composition des LPS pourraient permettre aux bactéries d'échapper à la reconnaissance par le système immunitaire de la plante et affecter probablement aussi la résistance bactérienne à l'adsorption et/ou à l'infection par les phages (Ojanen et al. 1993; Hung et al. 2002).

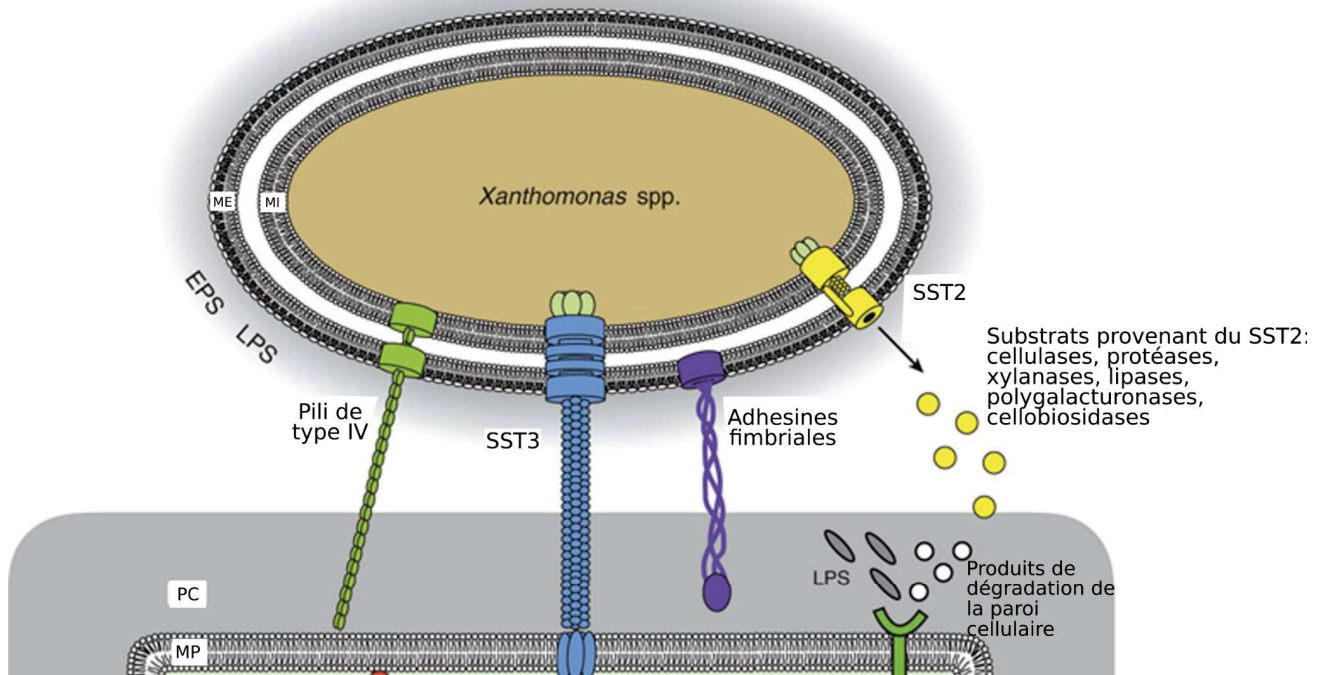


Figure 11. Les structures de surface des bactéries participant à leur pouvoir pathogène.

Les *Xanthomonas* spp. dépendent des SST2 et SST3, des adhésines, des EPS et des lipopolysaccharides (LPS) pour interagir avec leurs plantes hôtes. Les LPS peuvent être libérés de la surface bactérienne et déclencher des réponses de défense de la plante. Les LPS et autres PAMPs sont détectés par des récepteurs spécifiques des plantes qui activent les réponses de défense des plantes (PTI). L'immunité déclenchée par les PAMPs peut également être déclenchée par les produits de dégradation de la paroi cellulaire des plantes qui résultent de l'action des enzymes de dégradation sécrétées par le SST2. Le SST3, qui transloque les protéines effectrices dans la cellule hôte, est essentiel pour la pathogénicité bactérienne. MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; PC, paroi cellulaire ; MP, membrane plasmique. D'après (Buttner and Bonas 2009).

L'adhésion des bactéries aux surfaces biotiques est la clé de l'invasion du tissu hôte. La fixation des bactéries dépend **d'adhésines** spécifiques ancrées dans la membrane externe des bactéries. L'analyse comparative des séquences génomiques a révélé que les bactéries phytopathogènes possèdent un certain nombre d'adhésines qui servent probablement de médiateur à l'attachement bactérien à de multiples récepteurs de la cellule hôte et pourraient contribuer à différentes étapes du processus d'infection (Das et al. 2008). A ce jour, il a été démontré que les adhésines de *Xoo*, *X. axonopodis* pv. *citri* (*Xac*) et *X. fuscans* ssp. *fuscans* (*Xff*) sont impliquées dans la virulence bactérienne et la fixation aux feuilles et/ou aux graines (Ray et al. 2002; Das et al. 2008; Gottig et al. 2009; Darsonval et al. 2009). Les analyses mutationnelles des gènes des adhésines de *Xff* ont révélé que ces dernières contribuent individuellement et de manière complémentaire aux différentes étapes du processus d'infection (Darsonval et al. 2009). En accord avec cela, il a été découvert que XadA et XadB, les adhésines de *Xoo*, sont nécessaires pour l'attachement bactérien à la surface de la feuille, tandis que l'homologue de l'adhésine autotransporteur YapH, de *Yersinia* spp., contribue à la colonisation bactérienne des vaisseaux du xylème (Das et al. 2008).

b) Les systèmes de sécrétion

i. Le système de sécrétion de type 3

Chez la plupart des bactéries à gram négatif pathogènes des plantes et des animaux le système de sécrétion de type 3 (SST3) est un acteur majeur de la pathogénicité. Il est décrit comme une "seringue moléculaire" permettant l'injection d'effecteurs de type 3 (ET3) dans le cytoplasme de la cellule hôte (Figure 12, (Deng et al. 2017)). Chez les bactéries phytopathogènes le SST3 est constitué de deux ensembles de protéines codées par les gènes *hrp* ("Hypersensitive response and pathogenicity") et *hrc* ("HR and conserved"). Les protéines Hrc dirigent la sécrétion des substrats SST3 à travers l'enveloppe bactérienne, tandis qu'un sous-ensemble de protéines Hrp sont elles-mêmes sécrétées par le SST3 et dirigent la translocation des effecteurs à travers les barrières des cellules hôtes (Alfano and Collmer 2004). Le groupe de gènes chromosomiques *hrp*, contient plus de 20 gènes organisés en plusieurs unités transcriptionnelles (Büttner and Bonas 2002). Ces gènes ont été découverts pour la première fois chez *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* et se sont révélés essentiels pour la pathogénicité bactérienne et l'induction de la HR dans les plantes hôtes et non hôtes, respectivement (Lindgren et al. 1986). Identifiés dans la plupart des bactéries à gram-négatif, les gènes *hrp* sont absents chez *Agrobacterium tumefaciens* et *Xylella fastidiosa*, cette dernière étant étroitement liée à *Xanthomonas* spp. (Bonas 1994; Simpson et al. 2000; Goodner et al. 2001; Wood et al. 2001).

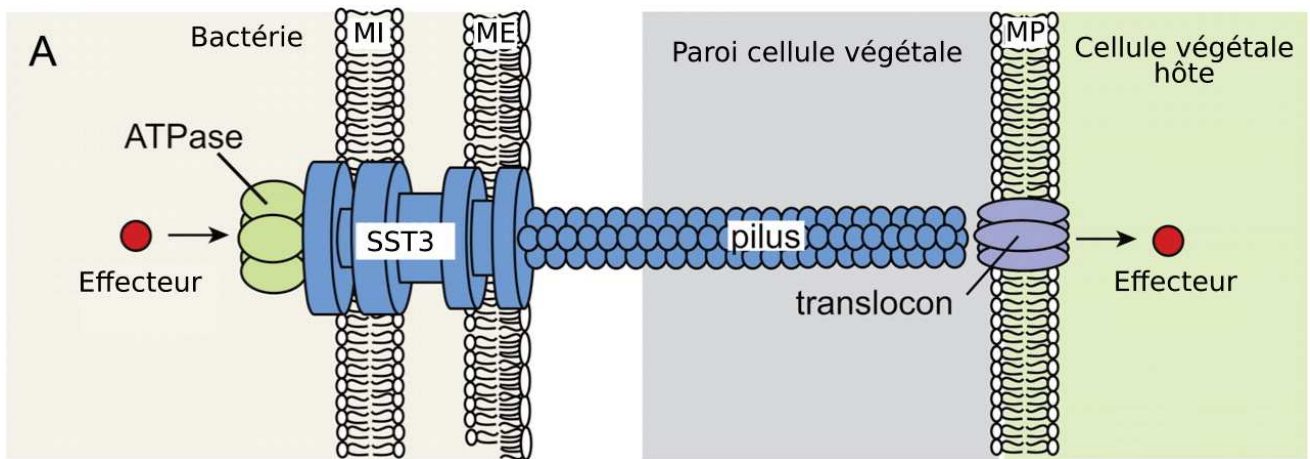


Figure 12. Représentation schématique d'un système de sécrétion de type III (SST3) présent chez les bactéries phytopathogènes (Buttner and He 2009).

Représentation schématique du SST3 des bactéries phytopathogènes. L'appareil de sécrétion traverse les deux membranes bactériennes et est associé à une ATPase cytoplasmique. Le T3SS des bactéries pathogènes des plantes est connecté à un pilus extracellulaire qui traverse vraisemblablement la paroi cellulaire de la plante. Le système T3SS des bactéries pathogènes des animaux est associé à une courte aiguille extracellulaire, qui sert de canal de transport pour les protéines sécrétées. L'aiguille est reliée par le complexe de pointe au translocon, qui forme un canal protéique dans la membrane plasmique de l'hôte et permet le transport des protéines effectrices dans le cytosol de la cellule hôte. La preuve de la présence d'un complexe de pointe chez les bactéries phytopathogènes fait encore défaut. MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; MP, membrane plasmique.

ii. Les autres systèmes de sécrétion

Bien que le SST3 soit considéré comme le principal système de sécrétion responsable de la virulence, la contribution d'autres systèmes de sécrétion à la pathogénie ou à l'aptitude globale du pathogène, comprenant les systèmes de sécrétion de type 2 (SST2) et de type 6 (SST6), a été démontrée chez *X. euvesicatoria*, *X. citri* pv. *citri* et *X. oryzae* pv. *oryzae* (Baptista et al. 2010; Szczesny et al. 2010; Bayer-Santos et al. 2018, 2019). Ces deux systèmes ont été reportés pour être impliqués dans la sécrétion de plusieurs enzymes dégradant la paroi cellulaire (Figure 13).

Le cluster SST2_{xps} est conservé dans le genre *Xanthomonas* (Timilsina et al. 2020), et certaines bactéries en possèdent même plusieurs (e.g. *X. euvesicatoria*). Le SST2 permet la sécrétion vers la matrice extracellulaire de toxines et d'un grand nombre et d'une grande variété d'enzymes telles que des protéases, des lipases et des enzymes de dégradation de la paroi cellulaire. Dans tous les cas examinés, les mutations des gènes codant pour des SST2 diminuent la virulence chez un ou plusieurs hôtes, ce qui montre clairement l'importance du SST2 dans la pathogénèse végétale (Cianciotto and White 2017).

Le SST6 est une machinerie contractile composée de 13 protéines structurelles centrales. Ce système est apparenté, du point de vue évolutif, à la queue des bactériophages (Basler and Mekalanos 2012) et s'assemble en trois complexes majeurs : le complexe transmembranaire, la plaque de base et la queue. Les SST6 sont connus pour médier la compétition entre les bactéries rivales dans les environnements polymicrobiens en transloquant des toxines antibactériennes (e.g. des enzymes dégradant la paroi cellulaire, des nucléases et des enzymes ciblant les membranes) dans les cellules bactériennes concurrentes. Les SST6 peuvent délivrer des effecteurs protéiques autant dans des cellules procaryotes que dans des cellules eucaryotes (Cianfanelli et al. 2016; Hachani et al. 2016). Dans ce même contexte de compétition entre bactéries, les SST6 sécrètent aussi des effecteurs qui facilitent l'acquisition de nutriments (Wang et al. 2015c; Si et al. 2017b, a). Par ailleurs, un grand nombre de bactéries déploient leur système de sécrétion de type 4 (SST4) pour transférer de l'ADN, des protéines ou d'autres macromolécules vers d'autres bactéries ou cellules eucaryotes (Figure 13, (Waksman 2019; Li et al. 2019). Les SST4 sont composés principalement de deux sous-familles, les systèmes de conjugaison, pour échanger de l'ADN, et de translocation d'effecteurs (Cascales and Christie 2003). Ces deux catégories de systèmes nécessitent généralement un contact direct de cellule à cellule; cependant, quelques SST4 fonctionnent indépendamment des interactions avec les cellules cibles pour importer de l'ADN exogène ou exporter de l'ADN ou des protéines vers le milieu (Alvarez-Martinez and Christie 2009; Stingl et al. 2010; Koch et al. 2020).

Les systèmes de sécrétion de type 1 (SST1) ou transporteurs ABC (ATP-binding cassette) sont des complexes hétérotrimériques composés d'un exportateur ABC IM, d'une protéine de fusion

membranaire (MFP) et d'une protéine de membrane externe (OMP) formant un pore. Les T1SS permettent la sécrétion d'un large éventail de substrats (protéiques et non protéiques, tels que des toxines, des protéases et des lipases du cytoplasme vers l'espace extracellulaire en une seule étape, sans intermédiaire périsplasmique stable (Figure 13, (Gerlach and Hensel 2007).

Le système de sécrétion de type 5 (SST5) consiste en une seule chaîne polypeptidique avec un domaine translocateur à barillet β dans la membrane externe, et une région extracellulaire passagère ou effectrice (Figure 13, (Drobnak et al. 2015). Les SST5 n'ont pas de source d'énergie évidente pour le transport, car il n'y a pas d'énergie chimique telle que l'ATP disponible dans le périplasma, et aucun gradient stable de protons ou d'autres ions n'existe à travers la membrane externe. Cela a conduit à l'appellation "autotransporteur" qui suggère un système de sécrétion complètement autosuffisant (Klauser et al. 1993). Les substrats transportés par les autotransporteurs ont des fonctions très diverses, allant des adhésines (fixation aux surfaces, formation de biofilm) ou des enzymes aux protéines toxiques.

4. Les effecteurs TAL et non-TAL

Parmi les ET3 de *Xanthomonas*, certains sont capable de moduler la physiologie de l'hôte pour obtenir des nutriments, faciliter l'infection et/ou échapper aux réponses immunitaires de l'hôte (Kay and Bonas 2009). On les classe en deux groupes principaux en fonction de leur structure moléculaire, de leur fonction et de leurs interacteurs. Le premier groupe forme un ensemble hétérogène de protéines dites "***Xanthomonas* outer proteins**" (Xops), ce sont des effecteurs dotés d'un large éventail d'activités enzymatiques, dont les cibles et les effets physiologiques associés se situent principalement dans le cytoplasme de l'hôte et dont le mécanisme d'action repose sur des interactions protéine-protéine. Le second regroupe uniquement les protéines de la famille des "**Transcription Activator Like Effectors**" (TALE), qui sont des protéines modulaires partageant une architecture très spécifique combinée à des motifs eucaryotes qui leur permettent d'agir comme de véritables facteurs de transcription dans le noyau de l'hôte.

La plupart des Xops sont impliqués dans l'altération des voies de défenses déclenchée par les PAMP-DAMP (PTI/DTI) ou par les effecteurs (ETI). Comme exemple de Xops qui suppriment les défenses de la plante, il y a XopP de *Xoo*, qui a récemment été identifié pour bloquer l'immunité déclenchée par les peptidoglycanes et la chitine, chez le riz, en inhibant l'ubiquitine ligase U-box *OsPUB44*, un régulateur positif de l'immunité basale (Ishikawa et al. 2014). Un autre exemple apparaît chez la souche *Xoo* PXO99^A qui possède 18 effecteurs bactériens non-TAL. Parmi eux, XopZ agit comme un facteur de virulence et supprime les mécanismes de défense basale des plantes. XopZ permet de réduire le dépôt de callose, et serait induit de façon HrpG-dépendante (Song and Yang 2010). XopD est un autre exemple de Xop utilisant une voie de type ubiquitine et

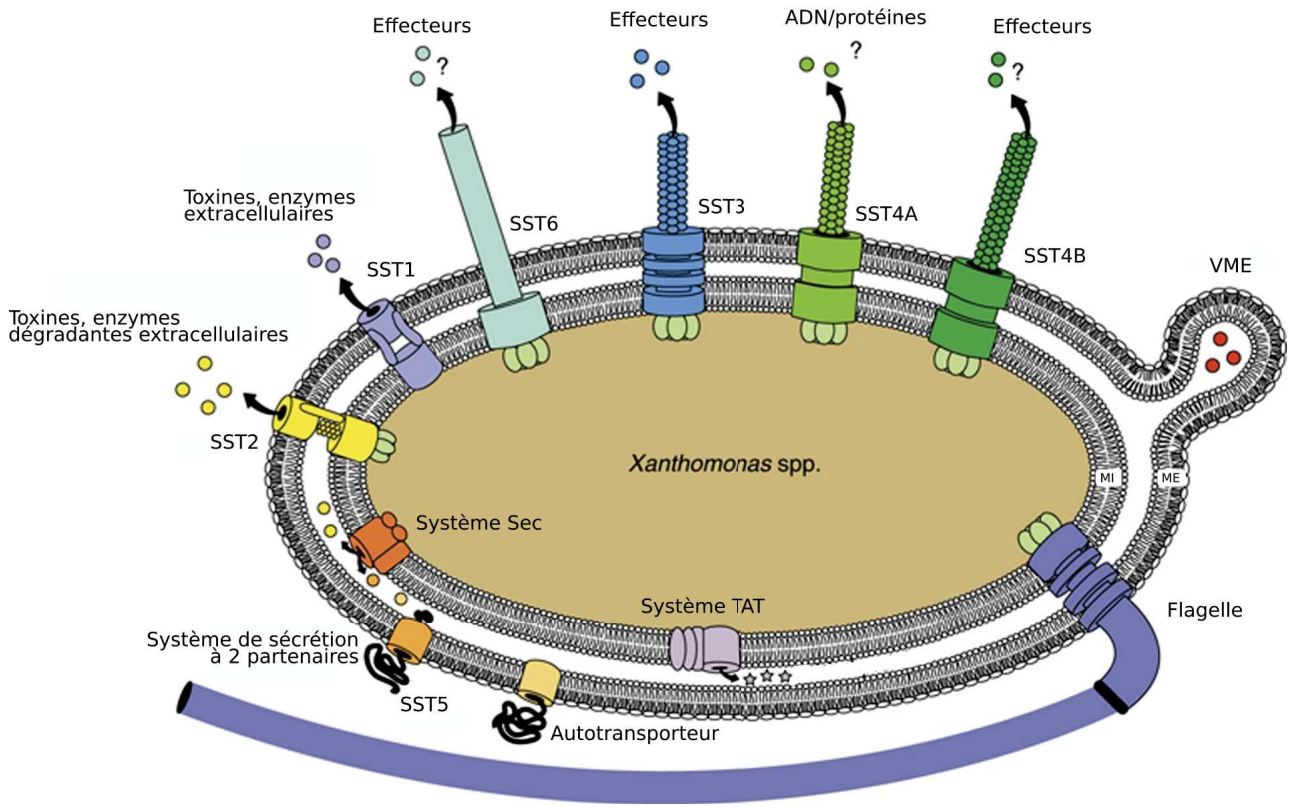


Figure 13. Représentation schématique des systèmes de sécrétions présents chez *Xanthomonas* spp. (Buttner and Bonas 2009).

Six types de systèmes de sécrétions sont représentés ici. Les systèmes SST2 et SST5 dépendent du système Sec ou TAT pour le transport des protéines à travers la membrane interne. Les systèmes SST3, SST4 et SST6 sont associés à des structures “pilus” extracellulaires et transloquent vraisemblablement les protéines dans la cellule hôte. Jusqu'à présent, la translocation des protéines a été prouvée expérimentalement pour les SST3. Dans quelques cas seulement, la sécrétion des protéines dépend de la formation de vésicules de la membrane externe (VME). MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; TAT, twin-arginine translocation.



Figure 14. Structure type d'un effecteur TAL de *Xanthomonas*.

Les TALE possèdent un signal de translocation, qui permet le transport du TALE à l'intérieur de la cellule hôte via le SST3. Une région centrale où des répétitions en tandem se succèdent, conférant au TALE cette spécificité de fixation au promoteur du gène cible. Les TALE possèdent aussi plusieurs motifs NLS (“Nuclear Localisation Signal”), et un domaine d'activation (AD) de la transcription, en C-terminal. Les TALE sont très conservés, mais le nombre de répétitions, ainsi que l'ordre de ces dernières les différencient et définissent leur activité. D'après (Boch & Bonas 2010).

agissant comme une protéase SUMO pour déstabiliser sa protéine cible et ainsi améliorer la virulence de *X. euvesicatoria* pendant l'infection des plants de tomate (Üstün and Börnke 2014). XopY de la souche *Xoo* T7174 interagit avec deux kinases cytoplasmiques semblables à des récepteurs RLCK, OsRLCK55 et OsRLCK185, et supprime la phosphorylation d'OsRLCK185 pour interférer avec la signalisation d'une protéine MAPK (Yamaguchi et al. 2013). Il a également été démontré que XopN, un effecteur important de la souche de *Xoo* KXO85, cible *OsVOZ2* et *OsXNP*, codant un facteur de transcription de type "Vascular Plant One-Zinc Finger 2" et une thiamine synthase putative, respectivement. XopN, induit de façon HrpX-dépendante, permettrait l'infection et l'accroissement de la virulence chez KXO85 via l'interaction avec *OsVOZ2* dans le cytoplasme et le noyau (Cheong et al. 2013). A contrario, les TALE agissent comme des facteurs de transcription qui remodelent le métabolisme cellulaire de l'hôte par l'activation de gènes de sensibilité (S) afin de créer de meilleures niches pour les bactéries (Timilsina et al. 2020) **(Plus de détails sur les TALE seront donnés dans la section suivante V.)**.

V. L'interaction TALE-hôte

Le gène *avrBs3* a été le premier membre isolé de la famille des TALE. Il a été identifié génétiquement à l'Université de Floride, à Gainesville, par Ulla Bonas et ses collaborateurs. C'est l'inoculation des souches 71-21 et 82-8 de *X. euvesicatoria* conduisant à une HR chez le cultivar de poivron résistant ECW-30R, portant le gène *R Bs3*, qui suggéra la présence d'un gène d'avirulence (*avr*) correspondant, appelé *avrBs3*, dans les deux souches (Bonas et al. 1989). Par la suite, la complémentation de la souche virulente *Xcv* 85-10 avec *avrBs3* entraîna l'induction d'une HR dans les feuilles des plantes de poivron ECW-30R, ce qui permit de confirmer son rôle d'effecteur d'avirulence (Bonas et al. 1989). Peu après la découverte d'*avrBs3*, trois homologues de la famille des TALE, *avrXa5*, *avrXa7* et *avrXa10*, ont été clonés à partir de la souche de *Xoo* PXO99^A en utilisant *avrBs3* comme sonde (Hopkins et al. 1992).

1. Structure des TALE

Après *AvrBs3* un grand nombre d'autres TALE ont été décrits chez de nombreuses espèces de *Xanthomonas* montrant que la structure de ces protéines est très conservée et se caractérise par (Figure 14) :

- un **signal de sécrétion de type III**, en N-terminal, permettant la translocation du TALE dans le cytoplasme de la cellule hôte (Szurek et al. 2002),
- un **domaine central** où des répétitions en tandem se succèdent (de 1,5 à plus de 30) (Bonas et al. 1989). Chaque répétition est constituée de 33 à 34 acides aminés, quasiment identiques, à l'exception de ceux en position 12 et 13 qui sont hypervariables et appelés

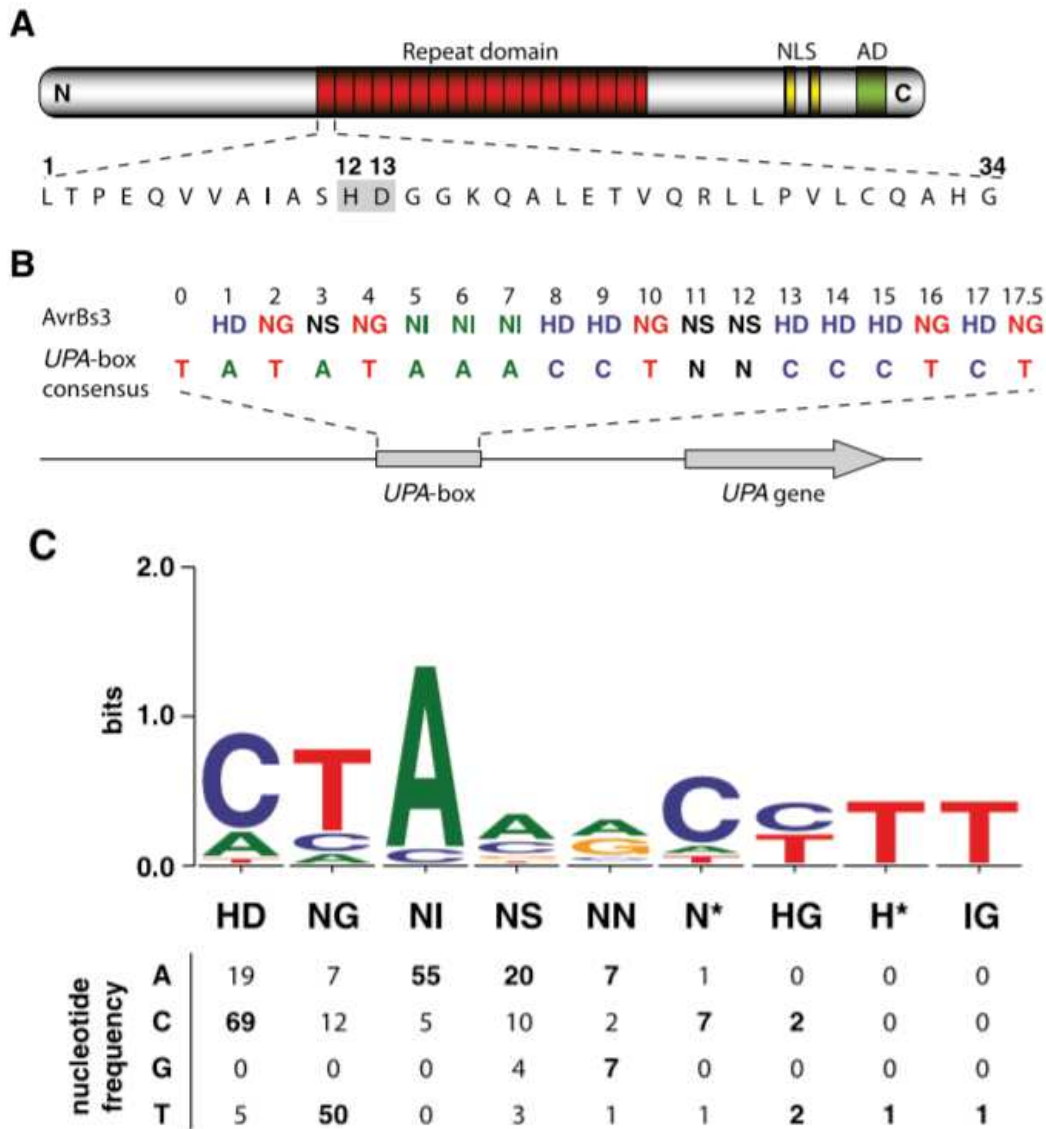


Figure 15. Modèle de la spécificité de l'interaction de l'ADN-cible et des TALE.

(A) Les effecteurs TAL contiennent au niveau de la région centrale des répétitions en tandem se composant de 33/34 acides aminés quasi-identiques, à l'exception de deux résidus hypervariables : les RVD ("Repeat Variable Diresidue"). Les acides aminés hypervariables 12 et 13 sont ombrés en gris. (B) Les acides aminés hypervariables aux positions 12 et 13 des 17,5 répétitions du TALE AvrBs3 de *X. euvesicatoria* sont alignés sur le consensus de la « UPA box ». (C) Les répétitions des effecteurs TAL et des séquences cibles prédites dans les promoteurs de gènes induits ont été alignées manuellement. Les nucléotides dans le brin d'ADN supérieur qui correspondent aux acides aminés hypervariables dans chaque répétition ont été comptés sur la base des combinaisons suivantes de huit TALE et gènes cibles identifiés expérimentalement : AvrBs3/Bs3, UPA10, UPA12, UPA14, UPA19, UPA20, UPA21, UPA23, UPA25, AvrBs3rep16/Bs3-E, AvrBs3rep109/Bs3, AvrHahl/Bs3, AvrXa27/Xa27, PthXol/Xa13, PthXo6/OsTFXI et PthXo7/OsTFIIAgl. Un astérisque indique que l'acide aminé 13 est absent dans ce type de répétition. Les fréquences nucléotidiques les plus élevées sont en gras. Les fréquences nucléotidiques sont affichées dans un logo (<http://weblogo.threeplusone.com>). D'après (Boch et al. 2009).

Culture	Nombre de gènes <i>SWEET</i>	Références
<i>Arabidopsis thaliana</i>	17	(Chen et al. 2010)
<i>Amborella trichopoda</i>	8	(Eom et al. 2015)
<i>Oryza sativa</i>	22	(Streubel et al. 2013)
<i>Sorghum bicolor</i>	23	(Mizuno et al. 2016)
<i>Glycine max</i>	53	(Eom et al. 2015)
<i>Solanum tuberosum</i>	35	(Manck-Gotzenberger et al. 2016)
<i>Solanum lycopersicum</i>	29	(Feng et al 2015)
<i>Malus domestica</i>	33	(Wei et al. 2014)
<i>Vitis vinifera</i>	17	(Chong et al. 2014)

Tableau 2. Nombre de gènes *SWEET* au sein de certaines espèces du règne des *Plantae*.

Tableau adapté de (Mondal et al. 2021).

RVD pour "Repeat Variable Di-residues" (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Le résidu en position 13 plus particulièrement est celui qui confère au TALE sa spécificité de fixation au promoteur du gène cible en déterminant l'interaction avec les nucléotides; le résidu 12 quant à lui permettrait de stabiliser cette interaction (Deng et al. 2012; Mak et al. 2012),

- **plusieurs motifs NLS**, pour "Nuclear Localisation Signal", généralement deux ou trois, en C-terminal, leur permettant de voyager jusqu'au noyau de la cellule hôte grâce à leur liaison avec des importines α (Szurek et al. 2002; Hui et al. 2019b),

- un **domaine d'activation (AD)** de la transcription en C-terminal permettant l'induction des gènes ciblés via le recrutement de la machinerie de transcription de l'hôte (Marois et al. 2002).

2. Mécanisme de reconnaissance TALE-ADN

Le nombre de répétitions au niveau de la région centrale ainsi que la composition et l'enchaînement en RVD définissent la spécificité de reconnaissance de la séquence cible chez l'hôte. Les TALE se fixent à une séquence d'ADN appelée EBE pour "Effector Binding Element", située dans le promoteur des gènes cibles. En se basant sur le fait que AvrBs3 se lie directement à la "UPA-box" (élément promoteur) du gène *Bs3* et que la taille de cette "box" correspond en tout point au nombre de répétitions du domaine central de ce TALE, la possibilité qu'une répétition se lie physiquement à une paire de base d'ADN fut alors envisagée. En 2009 deux équipes découvrent le secret de l'interaction TALE-ADN, l'une par une approche génétique, l'autre par une approche computationnelle (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Le modèle une fois expliqué paraît simple : une répétition reconnaît une paire de bases, de telle sorte qu'une série de répétitions en tandem reconnaît une séquence d'ADN comprenant autant de nucléotides qu'il y a de répétitions. Le nombre de répétitions qui varient d'un TALE à l'autre va donc définir la longueur de l'EBE ciblée (Figure 15). Il a d'abord été montré que les RVD définissaient la spécificité de liaison, par exemple NN reconnaît un cycle purique, NG ou HG reconnaissent une thymine, et HD reconnaît une cytosine. Parmi les RVD plus répandues on note HD, NG, HG, NN, NS, NI et N* (l'étoile signifiant une répétition de 33 aa du fait de l'absence du résidu 13). Selon Boch et ses collaborateurs (2009) six répétitions au minimum seraient nécessaires à l'induction d'une cible. En 2012, Mak et ses collaborateurs révèlent la structure en trois dimensions des TALE et comment ces derniers se fixent à l'ADN (Mak et al. 2012) (**voir aussi section V.6. pour les applications biotechnologiques des TALE**).

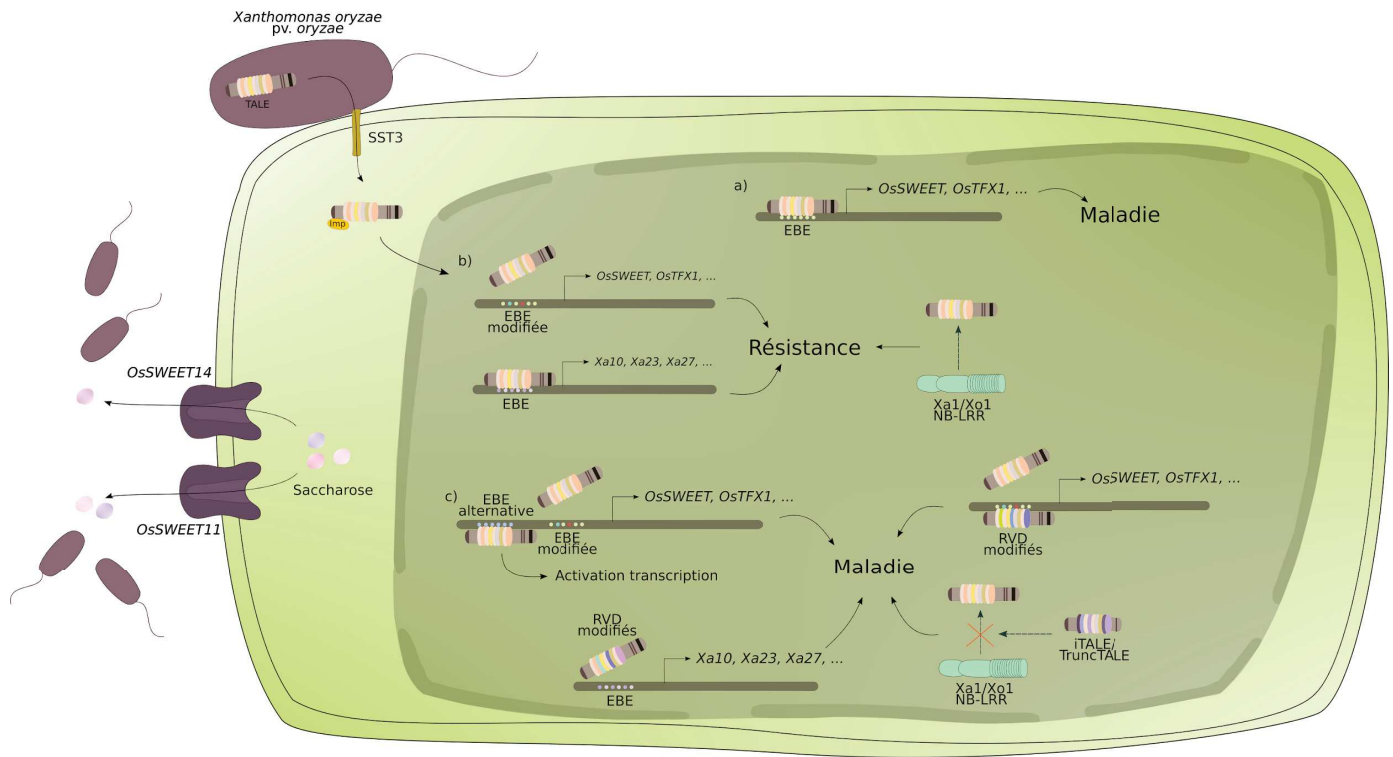


Figure 16. Effecteurs TAL de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* en interaction avec la cellule végétale.

a) Dans un contexte d'interaction compatible avec l'hôte, certains TALE de *Xoo* se fixent au niveau de séquences appelées EBE, pour "Effector Binding Element", situées dans le promoteur des gènes de sensibilité (S). Cette fixation, permet de recruter la machinerie cellulaire de l'hôte et d'induire la transcription de gène S, favorisant ainsi la croissance bactérienne et le développement de la maladie.

b) Au fil du temps, la plante a développé des mécanismes lui permettant de contrer l'agent pathogène, soit i) en modifiant l'EBE située dans les promoteurs des gènes S, empêchant ainsi les TALE de virulence de s'y fixer et d'induire la maladie; soit ii) en créant des EBE positionnées en amont gènes de résistance, que l'on nomme gènes exécuteurs (E), piégeant ainsi les TALE qui induisent par conséquent les gènes de résistance ciblés; ou bien iii) via la reconnaissance de ces effecteurs par le biais de protéines de type NB-LRR, comme Xa1 ou encore Xo1, menant au déclenchement des voies de défense de la plante.

c) Toutefois, dans cette course aux armements la bactérie a elle aussi trouvé d'autres moyens pour contourner les systèmes de défense de la plante. Là où la plante a modifié une EBE, la bactérie va faire en sorte de trouver une EBE alternative dans le promoteur du gène S pour pouvoir de nouveau l'induire. Une autre astuce utilisée par la bactérie est de modifier la séquence en RVD de ses TALE pour pouvoir se fixer sur l'EBE modifiée. Par ailleurs, cette technique de modification de séquence RVD, permet aussi à la bactérie de contourner la résistance médiée par l'induction de gènes E. Pour finir, afin de contrer les mécanismes de résistance NB-LRR dépendants, la bactérie a développé des TALE tronqués, ou interférant, nommés TruncTALE ou iTALE. Les mécanismes régissant ce contournement de la résistance ne sont pas encore bien compris, cependant il semblerait que la présence de ces TALE interférant, chez les certaines souches de *Xoo* Asiatiques, permettrait aux TALE "classiques" de ne pas déclenchaient la résistance, dans des variétés au fond génétique comportant *Xa1/Xo1*.

3. La sensibilité à travers les TALE

Les TALomes, répertoire de gènes *tal*, des différentes espèces de *Xanthomonas* varie en nombre et en composition en fonction des souches, mais aussi des pathovars. Les TALE jouent un rôle majeur dans l'interaction avec l'hôte en induisant l'expression de gènes dit de sensibilité (S) dont l'induction est essentielle à la multiplication du pathogène et/ou au développement de symptômes. Ces gènes S codent majoritairement des transporteurs (de sucres, de sulfate...), ou des facteurs de transcription (Figure 16.a). Parmi eux, les transporteurs de sucres particulièrement, sont les cibles communes de plusieurs TALE et ce dans divers pathosystèmes, représentant des cas d'évolution convergente. C'est pourquoi de nombreuses études ont été menées afin de les caractériser, dans des conditions d'interactions plante-pathogène.

a) Les transporteurs membranaires

Les gènes *SWEET* se retrouvent en très grand nombre chez les plantes, contrairement à une seule copie chez les mammifères. Ces gènes codent pour des transporteurs membranaires de sucres qui sont impliquées de manière significative dans différents événements biologiques des plantes (e.g. la sénescence, le développement du pollen, les interactions plante-pathogène). Le nombre de gènes de la famille des *SWEET* varie considérablement au sein du règne des *Plantae* (Tableau 2). Il peut aller de 8 gènes *SWEET* chez *Amborella trichopoda*, une angiosperme précoce, jusqu'à 53 chez *Glycine max* de la famille des *Fabaceae* au sein du phylum Angiospermes (Eom et al. 2015). Des études phylogénétiques détaillées ont permis de les classer en quatre clades, en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre (Eom et al. 2015; Chen et al. 2015; Li et al. 2018). C'est dans le cadre de l'interaction *Xoo*-riz que le rôle déterminant de certains gènes *SWEET* dans le développement de la maladie a été mis en évidence pour la première fois (Chen et al. 2010). Il existe 22 paralogues des gènes *SWEET* chez le riz et il a été démontré que tous les membres du clade III pouvaient agir comme des gènes de sensibilité (Streubel et al. 2013). Cependant seul trois d'entre eux ont été démontrés comme naturellement induits par différentes souches de *Xoo*. Il s'agit de *OsSWEET11* (alias *Xa13*) qui est induit transcriptionnellement par le TALE PthXo1 (Römer et al. 2010), le gène *OsSWEET13* (alias *Xa25*) induit par les TALE PthXo2A, PthXo2B et PthXo2C (Zhou et al. 2015; Zaka et al. 2018), et le gène *OsSWEET14* (alias *Xa41*) induit par les TALE AvrXa7, PthXo3, TalC ou TalF (alias Tal5) (Figure 17, (Streubel et al. 2013; Tran et al. 2018). Dans ce dernier cas, tous les TALE mentionnés, à l'exception de TalC, utilisent des EBE qui se chevauchent (Figure 18). Plusieurs hypothèses ont été émises quant à la fonction que pourrait jouer la surexpression des *SWEETs* dans le développement des bactérioses. L'export de sucres de la cellule vers l'apoplaste pourrait servir de source de carbone pour la bactérie. Une autre possibilité serait que ce déséquilibre en sucre favorise une accumulation d'eau, qui faciliterait

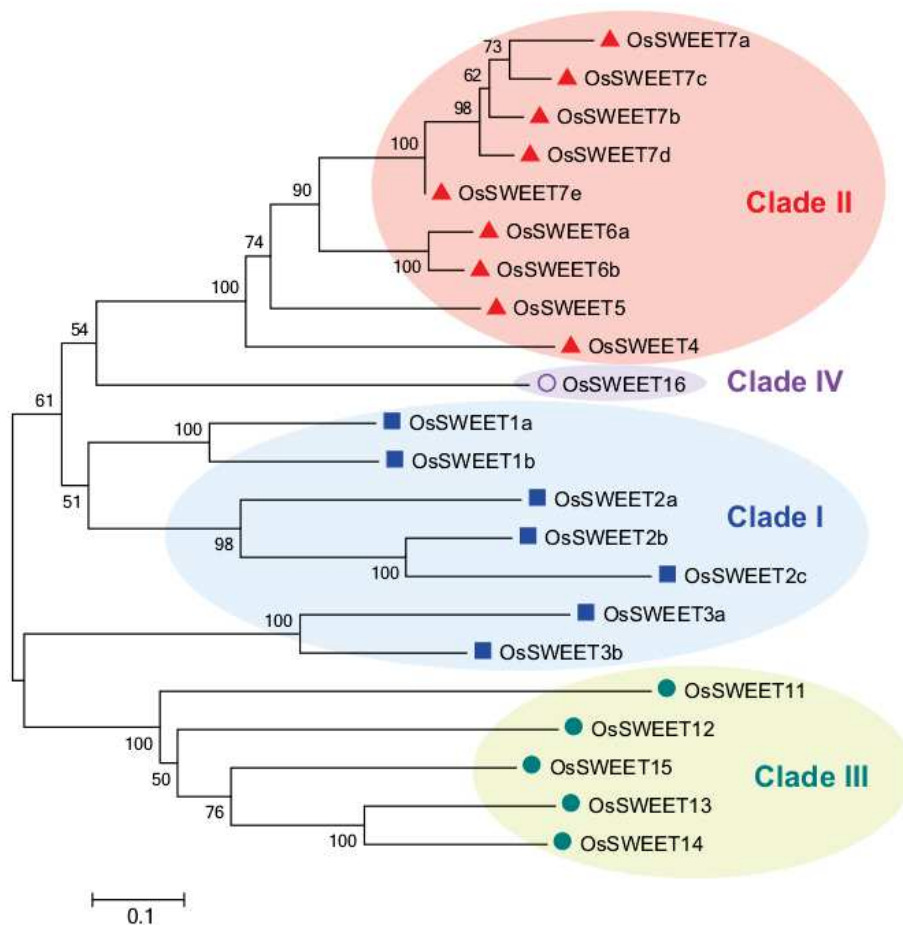


Figure 17. Gènes *OsSWEET* du riz répartis en cinq clades en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre.

Arbre phylogénétique des protéines *OsSWEET*. Les séquences en acide aminé ont été obtenues à partir d'UniProt et alignées à l'aide de MUSCLE avec les paramètres par défaut. Les alignements ont été analysés par la méthode "neighbor-joining" avec MEGA5.10. Les nombres aux intersections représentent la valeur de pourcentage de bootstrap basé sur 1000 répliquats. Les protéines du clade I sont précédées d'un carré bleu, du clade II d'un carré rouge, du clade III d'un rond vert et du clade IV d'un cercle violet. Tous les membres du Clade III agissent comme des gènes *S*, mais uniquement trois (*OsSWEET1*, *OsSWEET13* et *OsSWEET14*) sont induits naturellement par des TALE de *Xoo*. D'après (Streubel et al. 2013).

hypothétiquement le mouvement de l'agent pathogène et l'entrée d'une plus grande quantité de bactéries dans le tissu (Chen 2014; Schwartz et al. 2017; Aung et al. 2018; El Kasmi et al. 2018). De façon intéressante, la convergence évolutive pour l'induction des gènes *SWEET* est aussi retrouvée entre pathosystèmes puisque des gènes homologues sont aussi induits par des TALE de *Xanthomonas* chez d'autres hôtes (Figure 18). Chez le manioc, l'induction du gène *MeSWEET10a* par l'effecteur TAL20_{Xam668} entraîne l'exportation de glucose et de saccharose vers l'apoplaste, le développement de lésion aqueuse et une augmentation de la croissance bactérienne apoplastique (Cohn et al. 2014). Chez les agrumes, les TALEs PthA4, PthA^w et PthA* induisent le gène *CsSWEET1*, qui appartient au clade I, mais cette activation se semble pas favoriser le développement de la maladie, ce qui laisse penser que ce transporteur ne joue pas de rôle dans la pathogénie (Hu et al. 2014). Chez le coton, il a été démontré que le gène *GhSWEET10* est activé par le TALE de virulence majeur Avrb6 présent dans la souche *Xcm_{H1005}*, et que son activation est associée non seulement à l'exportation de saccharose et à la formation de lésions aqueuses, à la dispersion des bactéries à la surface de la feuille, mais ne permet pas d'accroître la quantité de bactéries dans le mésophylle (Yang et al. 1994; Cox et al. 2017).

A ce jour, chez *Xoc* seul un TALE de virulence majeur a été identifié. Il s'agit de Tal2g, identifié par mutagenèse de chacun des TALE de la souche de *Xoc* BLS256. Tal2g induit le gène de sensibilité *OsSULTR3;6*, codant un transporteur de sulfate, nécessaire au développement complet des symptômes de la bactériose à stries foliaires chez le riz. *Xoo* et *Xoc* se distinguant par leur spécificité tissulaire d'infection, il est intéressant de noter que *Xoc* induit un autre type de transporteur. La perturbation de l'interaction entre Tal2g et son EBE dans le promoteur de *OsSULTR3;6* entraîne des lésions aqueuses plus petites et une exsudation des bactéries à la surface des lésions moindre. Bien que les implications physiologiques exactes de la régulation de ce gène dans la pathogénie ne soient pas encore bien comprises, on suppose qu'il modifie le statut redox ou l'équilibre osmotique de la cellule pour interférer avec la signalisation de défense et favoriser le développement des symptômes (Cernadas et al. 2014).

b) Les facteurs de transcription

Une deuxième catégorie plus hétérogène de gènes *S* ciblés par les TALE sont les facteurs de transcription. La surexpression de ces gènes entraîne la dérégulation d'une ou plusieurs de leurs cibles secondaires, ce qui par conséquent permet le développement de la maladie. Certaines de ces cibles primaires et secondaires ont été caractérisées. Par exemple, chez le poivron, le gène *upa20*, qui code pour un facteur de transcription de la famille des bHLH ("basic helix-loop-helix"), est le premier facteur de transcription ciblé par un TALE à avoir été caractérisé. Dans un contexte de maladie, ce gène est induit par AvrBs3 de *X. euvesicatoria* et trans-active le gène *upa7*, codant pour

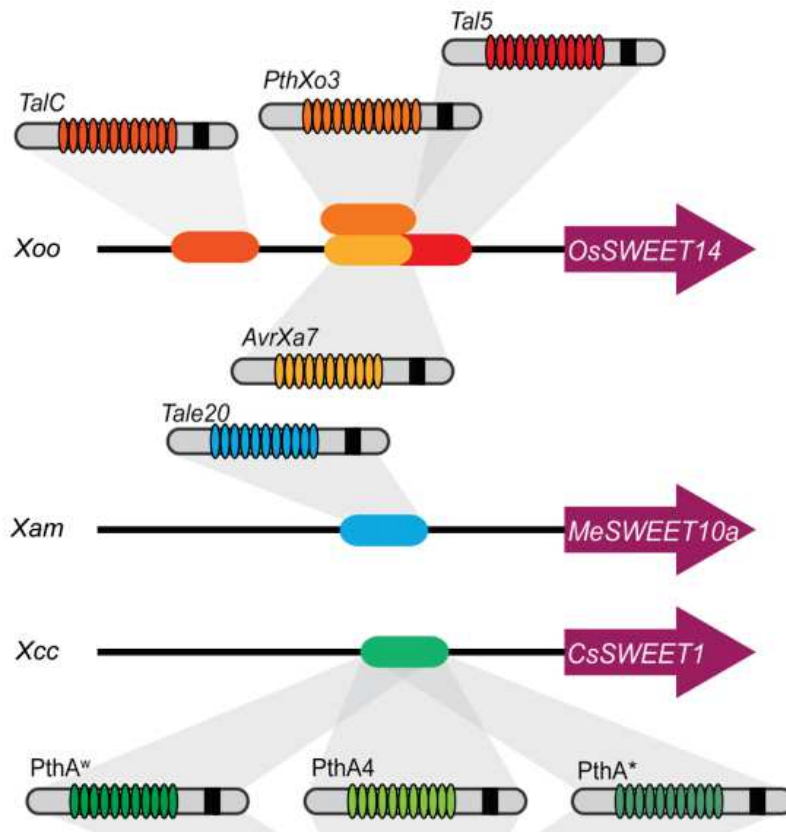


Figure 18. Convergence fonctionnelle des effecteurs bactériens TAL dans différents pathosystèmes et leurs cibles végétales.

Plusieurs cibles de sensibilité de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* appartiennent au clade III de la famille *SWEET*. Quatre TALE provenant de diverses souches de *Xoo* appartenant à des lignées différentes et d'origines géographiques distinctes ciblent *OsSWEET14*. TalC et Tal5 des deux souches Africaines de *Xoo* BAI3 (Burkina Faso) et MAI1 (Mali) se lient à deux sites de liaison (EBE) distincts. De plus, le promoteur d'*OsSWEET14* est ciblé par deux souches Philippines de *Xoo*, PXO86 et PXO61 par l'intermédiaire des TALE AvrXa7 et PthXo3. Les EBEs correspondants se chevauchent partiellement avec l'EBE de Tal5. Les réseaux de di-résidus variables répétés (RVD) et le nombre de répétitions (non représenté dans la figure) pour ces trois TALE sont significativement différents, mettant en évidence une convergence évolutive. La série PthA de *X. citri* ssp. *citri*. PthA4, PthA^w, et PthA^{*} induisent *CsSWEET1* appartenant au clade I de la famille *SWEET* chez les agrumes. Cependant, un rôle dans le développement de la maladie n'a pas été encore démontré. Une troisième espèce, *X. axonopodis* pv. *manihotis*, cible via TAL20 un membre de la famille *SWEET*, *MeSWEET10a*, qui appartient au Clade III, chez le manioc, et agit comme un gène de sensibilité. D'après (Hutin et al. 2015a).

une α -expansine. La surexpression d'*upa7* entraîne un élargissement des cellules du mésophylle des feuilles du piment ce qui permet le développement des symptômes foliaires et améliore potentiellement la survie épiphyte du pathogène (Wichmann and Bergelson 2004; Kay et al. 2007). Chez les agrumes, PthA4 et plusieurs de ces homologues ciblent le gène de sensibilité *CsLOB1*, un facteur de transcription appartenant à la famille des "Lateral Organ Boundaries" (LOB) (Hu et al. 2014). Dans des conditions non-pathogènes, les membres de la famille LOB régulent la croissance et le développement des plantes (Majer and Hochholdinger 2011). Dans des conditions pathogènes, la surexpression de *CsLOB1* entraîne une hypertrophie et une hyperplasie, ensemble de symptômes typiques de la maladie du chancre bactérien des agrumes (Hu et al. 2014).

Chez le riz, le gène *OsTFX1* code pour un facteur de transcription possédant un domaine bZIP ("basic leucine zipper"). Dans des conditions non-pathogènes cette catégorie de facteur de transcription peut être impliqué, entre autres, dans le développement des graines, la tolérance au sel, à la sécheresse et aux basses températures, mais aussi dans la fertilité du riz (Romagosa et al. 2001; Zou et al. 2008; Liu et al. 2012b). Les TALE PthXo6 et TalB, provenant respectivement de souches de *Xoo* Asiatiques et Africaines, se fixent au promoteur de ce facteur de transcription entraînant son induction et soutenant ainsi la virulence de l'agent pathogène (Sugio et al. 2007; Tran et al. 2018). L'expression constitutive de *OsTFX1* suffit à rendre la plante complètement sensible, même en l'absence de PthXo6, confirmant que *OsTFX1* agit comme un gène *S* (Sugio et al. 2007).

Par ailleurs, TalB régule aussi l'expression du gène *OsERF#123*, codant une protéine qui contient un domaine AP2, dont la surexpression confère une sensibilité à *Xoo* chez le riz (Tran et al. 2018). Ces facteurs de transcription de la famille AP2/ERF sont impliqués dans la réponse à plusieurs stress et certains sont capables de répondre à la signalisation de l'ABA et de l'ET, participant ainsi à l'activation de gènes de réponse aux stress (Xie et al. 2019). Il a été montré que les membres de la famille des facteurs de transcription AP2/ERF se fixent sur des séquences spécifiques appelées boîte GCC et jouent des rôles importants dans la défense contre les stress biotiques et abiotiques. Chez les plantes la surexpression de certains gènes AP2/ERF permet d'augmenter leur résistance aux bactéries, aux champignons et aux virus (Park et al. 2001; Gutterson and Reuber 2004; Zuo et al. 2007; Zhang et al. 2009; Jisha et al. 2015). Toutefois, lors de l'infection par des souches de *Xoo* Africaines, *OsERF#123* pourrait agir comme un "hub" pour moduler négativement les défenses contre l'agent pathogène (Tran et al. 2018). De plus, chez la souche de *Xoc* BLS256, Tal3c régulerait l'expression d'*ERF#123*, sans pour autant affecter l'état de virulence de la souche (Wang et al. 2017).

4. L'immunité et les TALE

a) La résistance par perte de sensibilité : contournement de l'ETS

Une des stratégies employées par les plantes pour contrer l'action des TALE est la génération de mutations au sein des promoteurs des gènes *S*, de manière à empêcher l'interaction TALE-ADN et donc l'induction du gène *S* (Figure 16.b). On observe alors une résistance dite par "perte de sensibilité". C'est le cas des allèles récessifs de *OsSWEET11/Xa13*, *OsSWEET13/Xa25* et *OsSWEET14/Xa41*, renommés respectivement *xa13*, *xa25* et *xa41* (Hutin et al. 2015a). Il existe une quantité importante de variétés de riz qui portent naturellement un allèle récessif *xa13*. Tous ces allèles diffèrent de *Xa13* par une insertion, délétion ou substitution dans l'EBE de PthXo1 (Römer et al. 2010). En ce qui concerne l'allèle récessif *xa25*, il diffère de *Xa25* par une délétion d'un seul nucléotide localisé dans l'EBE de PthXo2 (Zhou et al. 2015). Et quant à l'allèle récessif *xa41*, une délétion de 18 pb chevauchant les séquences reconnues par les effecteurs Tal5, PthXo3 et AvrXa7 a été identifié, conférant ainsi une forme de résistance à large spectre (Hutin et al. 2015b).

Un autre cas de résistance par perte de sensibilité apparaît lorsque la mutation est générée au sein de la séquence codante d'un gène. La région C-terminale des TALE contient des domaines qui interagissent avec des facteurs de transcription pour initier l'activation transcriptionnelle, et les unités TFIIA γ ont été décrites comme les facteurs de transcription interagissant avec les TALE dans le riz, les agrumes, le poivron et la tomate (Yuan et al. 2016; Huang et al. 2017). Dans le cas du facteur de transcription TFIIA γ 5, qui code pour l'une des sous-unités gamma du facteur général de transcription A nécessaire à la transcription dépendante de l'ARN polymérase II, on observe chez l'allèle récessif *xa5* un changement du 39^e aa d'une valine en une glutamine (Jiang et al. 2006; Iyer and McCouch 2007). Cette mutation dans le domaine N-terminal de la protéine diminue l'association entre TFIIA γ 5 et le domaine de liaison au facteur de transcription du TALE, ce qui est crucial pour une activation transcriptionnelle efficace (Yuan et al. 2016; Hui et al. 2019a; Han et al. 2020).

b) Induction des gènes exécuteurs (*E*)

Précédemment nous avons abordé le cas de la résistance provenant de la non-induction d'un gène de sensibilité; nous n'étions alors pas dans le cas d'une "ETI", mais dans celui d'une absence de déclenchement de la maladie ou "ETS compromise". Cependant un autre mécanisme de résistance existe, provenant de l'induction par les TALE de gènes dit exécuteurs (*E*), un gène dont l'induction empêche la croissance bactérienne via l'activation de processus de mort cellulaire (Figure 16.b, (Boch et al. 2014).

i. Le premier gène exécuteur identifié

Les gènes *E* codent pour des petites protéines de fonction inconnue et ne ressemblent pas aux protéines de résistance classiques que sont les NB-LRR. Le premier gène de résistance de type *E* à avoir été cloné chez le riz est le gène *Xa27* (Gu et al. 2005). Localisé sur le chromosome 6, il a été isolé par clonage positionnel (Gu et al. 2004). Les souches de *Xoo* portant le gène *tal avrXa27* sont en capacité d'induire *Xa27* et par conséquent la production d'une petite protéine de 113 aa sécrétée dans l'apoplaste, qui est toxique pour la cellule (Zhang et al. 2015). La surexpression de cette protéine entraîne un épaissement des éléments du faisceau vasculaire, ainsi qu'une HR bloquant totalement le développement de la bactériose vasculaire du riz (Wu et al. 2008). La résistance conférée par *XA27* est affectée par le stade de développement, augmentant avec l'âge des plantes et atteignant une résistance maximale à cinq semaines (Gu et al. 2004). Aucune protéine similaire n'a été rapportée en dehors du riz et les séquences protéiques de *XA27* chez la lignée sensible IR24 et la lignée résistante IRBB27 sont identiques. Ce qui les différencie est une délétion de trois nucléotides et la substitution d'un nucléotide dans l'EBE ciblé par *AvrXa27*. Une analyse de la diversité nucléotidique de *Xa27* reposant sur 27 accessions de riz sauvages et cultivés (*O. nivara* et *O. sativa*) a montré qu'IRBB27 était la seule variété à avoir une EBE fonctionnelle (Bimolata et al. 2013).

ii. Les autres gènes exécuteurs connus

A ce jour six gènes *E*, ainsi que leur effecteurs d'avirulence TALE associés, ont été clonés, à savoir *Bs3* et *Bs4C-R* chez le poivron (Römer et al. 2007; Strauß et al. 2012) et *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27* chez le riz (Gu et al. 2005; Tian et al. 2014; Wang et al. 2015a, 2021; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021).

- *Bs3* et *Bs4C*

Chez le poivron, le gène de résistance *Bs3*, isolé par clonage positionnel (Jordan et al. 2006), code pour une protéine de 342 aa présentant des homologies avec les protéines de la famille FMO ("flavin-dépendant mono-oxygénase"), et plus particulièrement avec celles de la sous-classe *Yucca* d'*Arabidopsis* (Römer et al. 2007). Ces dernières sont connues pour jouer un rôle dans la biosynthèse de l'auxine et dans des réponses développementales et physiologiques, et dans la réponse immunitaire. *Bs3* est directement induit par le TALE *AvrBs3* de *X. euvesicatoria*, conduisant à une HR (Römer et al. 2007).

En ce qui concerne le gène *Bs4C*, il est induit par le TALE *AvrBs4* de *X. euvesicatoria* et est le premier gène *E* à avoir été identifié par une approche de transcriptomique, combinée à de la prédiction de cible (Strauß et al. 2012). Ce gène est présent chez les plantes résistantes (*Bs4C-R*) et

sensibles (*Bs4C-S*), et ce qui empêche la fixation de *AvrBs4* au promoteur de *Bs4C-S* s'explique par un polymorphisme de deux nucléotides situé au niveau de son EBE.

- *Xa7*

Xa7 a été identifié à l'origine dans le cultivar de riz DV85 et cartographié finement sur un intervalle d'environ 118,5 kb sur le chromosome 6 (Chen et al. 2008). Ce gène code pour une protéine de 113 aa qui contient des domaines transmembranaires putatifs et qui n'a pas d'homologues chez d'autres plantes. Cette protéine est ancrée dans la membrane du réticulum endoplasmique et son expression ectopique déclenche la mort cellulaire chez les plantes monocotylédones et dicotylédones (Wang 2021). *Xa7* est ciblé par deux TALE, *AvrXa7* et *PthXo3*, et son activation est corrélée à des niveaux élevés de protéines PR et déclenche une HR chez le riz et le tabac en système hétérologue (Chen et al. 2021). De plus, il s'avère que ce gène *R* est plus efficace que d'autres à des températures élevées (Webb et al. 2010). Il a aussi été démontré que le gène *E Xa7* est hautement durable, de part le fait qu'*AvrXa7* joue un double rôle, le premier dans l'avirulence, en ciblant le gène *E Xa7*, et le deuxième dans la virulence, en ciblant le gène *S OsSWEET14* (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010; Chen et al. 2010). *AvrXa7* est considéré comme un facteur de virulence important, car distribué dans diverses souches de *Xoo* (Hopkins, 1992 ; Yang et al., 2000), cependant certaines souches isolées, perdant la capacité d'induire la résistance associée à *Xa7*, ont été rapportées comme faiblement virulentes, vraisemblablement en raison de mutations dans *AvrXa7* (Vera Cruz et al. 2000) **(pour plus de détails voir paragraphe V.5.a)**.

- *Xa10*

Xa10, qui confère une résistance à certaines races de *Xoo* des Philippines, a été identifié pour la première fois à partir du cultivar de riz Cas 209 (Lee et al. 2003; Gu et al. 2008). Ce gène, localisé sur le long bras du chromosome 11, code pour une protéine de 126 aa à quatre hélices transmembranaires qui forme des hexamères (Yoshimura et al. 1995; Tian et al. 2014), Lorsque *Xa10* est induit par le TALE *AvrXa10* de *Xoo*, la protéine se localiserait au niveau du réticulum endoplasmique de la cellule hôte et serait associée, dans un contexte de résistance, à l'augmentation de calcium dans le cytoplasme, ce qui activerait la mort cellulaire programmée. *Xa10* est actif à tous les stades de développement (Tian et al. 2014), et contrairement à *Xa27* et *Bs4C-R*, sa séquence codante est absente dans les variétés sensibles. Cependant, des séquences apparentées sont trouvées dans d'autres variétés, incluant celle de *Xa23* (Wang et al. 2015a).

- *Xa23*

Un autre gène exécuteur *Xa23*, isolé d'une espèce de riz sauvage, *O. rufipogon*, confère un spectre de résistance extrêmement large aux souches de *Xoo* isolées de différentes régions, à tous les stades de croissance du riz. *Xa23*, situé sur le chromosome 11, code pour une protéine de 113 aa qui partage 50% d'identité avec *XA10*, et dont des hélices transmembranaires sont prédites (Wang et al. 2015a). *XA10* et *XA23* possèdent tous deux un motif de fonction inconnue composé de cinq résidus d'aa (EDDEE et DNDDD, respectivement) à l'extrémité C-terminale (Tian et al., 2014). L'altération du motif ED dans *XA10* abolit l'activité HR (Tian et al., 2014). Par ailleurs, il a été démontré qu'en réponse à l'activation transcriptionnelle par *AvrXa23*, *Xa23* déclenche une HR chez le riz, le tabac et la tomate, mais le mécanisme d'activation de la mort cellulaire programmée reste encore inconnu. Comme *Xa27*, *Xa23* partage la même séquence codante que l'allèle sensible *xa23*. Toutefois, il diffère de ce dernier par un polymorphisme de 7pb dans sa région promotrice, entraînant l'induction de *Xa23*, mais pas de *xa23*, par *AvrXa23* (Wang et al. 2015a). *AvrXa23* s'est avéré être fortement conservé dans les populations de *Xoo* testées ce qui explique son large spectre d'efficacité (Wang et al. 2014a).

c) *Xa1/Xo1* et *Bs4C* : des exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant

Deux exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant sont connues à ce jour, les gènes *Bs4* et *Xa1* de la tomate et du riz respectivement, qui codent pour des NB-LRR (Yoshimura et al. 1998; Schornack et al. 2004). Ces derniers ne sont pas induits par les TALE, et reconnaissent ces ET3 indépendamment de leur séquence en RVD et de leur domaine d'activation de la transcription (AD). *Bs4* code pour une protéine TIR-NB-LRR qui est induit de façon constitutive chez la tomate, et dont l'expression n'augmente pas même en présence de *X. euvesicatoria*. Cette protéine NB-LRR perçoit *AvrBs4* dans le cytoplasme de la cellule, conduisant à une HR (Ballvora et al. 2001; Schornack et al. 2004, 2005). *Xa1*, quant à lui, a été le premier gène NB-LRR décrit comme un gène *R* actif contre une maladie bactérienne chez le riz (Yoshimura et al. 1998). Ce NB-LRR contient un domaine zfBED en N-terminal et six répétitions en tandem hautement conservées dans la région C-terminale, qui seraient responsables de la reconnaissance des TALE (Yoshimura et al. 1998; Read et al. 2020a). Plusieurs TALE de *Xoo*, incluant *PthXo1*, *Tal4* et *Tal9d* de la souche PXO99^A, ont été exprimés individuellement dans une souche mutante de PXO99^A ne contenant aucun TALE. Ces souches mutantes ont ensuite été testées sur des variétés portant le gène *Xa1*, telle que IRBB1, et ont été reconnues pour entraîner une HR (Ji et al. 2016). On connaît peu de choses sur le mécanisme de déclenchement de cette HR, mais il a été démontré que *Xa1* agit à l'intérieur du noyau (Figure 16.b, (Ji et al. 2016). Toujours chez le riz un autre gène nommé *Xo1*, allélique de *Xa1*, a été identifié en réponse aux souches Africaines de *Xoc*, agent causal de la BLS, et fonctionne

de façon similaire à *Xa1* (Triplett et al. 2016). *Xo1* est une protéine de type NB-LRR caractérisée par une région N-terminale qui comprend aussi un domaine zfBED et cinq répétitions en tandem hautement conservées (Read et al. 2020a, b). Ce gène déclenche une HR en présence des TALE de *Xoo* et *Xoc*. Il a été démontré que 3,5 répétitions minimum peuvent suffire à la reconnaissance d'un TALE et que cette dernière est abolie en l'absence de la région N-terminale (comme pour *Xa1* et *Bs4*) (Triplett et al. 2016). Récemment d'autres allèles de *Xa1* et *Xo1* ont été caractérisés dans plusieurs variétés de riz, nommés *Xa2*, *Xa14*, *Xa31(t)* et *Xa45(t)* (Ji et al. 2020; Zhang et al. 2020). L'analyse de ces allèles fonctionnels a mis en évidence l'absence systématique d'un motif "intervenant" présent dans les allèles non fonctionnels, ainsi que des différences dans le nombre de répétitions en tandem centrales (4 à 7) qui pourraient expliquer les différences dans leur activité (Zhang et al. 2020). Un criblage phénotypique pour la résistance de type *Xa1* dans 87 accessions de riz a révélé sa présence dans 16 d'entre elles, y compris différentes espèces de riz sauvages et cultivées telles que *O. glaberrima*, *O. nivara* et *O. sativa* (Ji et al. 2020). Une étude complémentaire sur plus de 500 accessions de *O. sativa* a révélé que les allèles de *Xa1* étaient présents chez les sous-espèces *aus*, *indica*, *japonica* tempérées et tropicales (Zhang et al. 2020). En 2016, 2 équipes ont découvert en parallèle deux TALE interférant/tronqués (iTALE/truncTALE) (Tal3a et Tal2h respectivement identifiés chez *Xoo* et *Xoc*) ayant la capacité de supprimer la résistance médiée par *Xa1* et *Xo1* (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). **Ce cas particulier de contournement de la résistance sera détaillé dans le paragraphe suivant (voir V. 5. a)).**

5. Les différents cas de contournement de la résistance par *Xoo*

Comme expliqué précédemment (paragraphe I.4.), le contournement de la résistance, aussi appelée ETS, est une stratégie mise en place par l'agent pathogène pour détourner la PTI et/ou l'ETI, afin de favoriser le développement des symptômes (Jones and Dangl 2006). Ces dernières années plusieurs études ont rapporté différents subterfuges mis en place par les souches de *Xoo* leur permettant de déjouer des gènes de résistance majeurs (Vera Cruz et al. 2000; Ji et al. 2016; Read et al. 2016; Quibod et al. 2020).

a) Contournement de la résistance *Xa4*: expansion de la race 2

La révolution verte ayant remplacé les variétés traditionnelles de riz par des variétés à haut rendement, une pression de sélection uniforme sur les populations de pathogènes a été créée, rendant leur évolution plus rapide. Récemment, Quibod et ses collaborateurs (2020) ont analysé un registre historique unique de pathogènes, afin d'évaluer l'impact d'un gène de résistance majeur, *Xa4*, dans la structure de la population de *Xoo* collectées aux Philippines sur une période de plus de 40 ans (Quibod et al. 2020). Après le déploiement de *Xa4* au début des années 1960, l'émergence de

groupes de pathogènes virulents a été associée par Mew et ses collaborateurs (1992) à l'adoption croissante de variétés de riz portant *Xa4*, qui ont atteint 80 % de la surface totale plantée (Mew 1992). L'analyse des génomes entiers a suggéré que les souches de *Xoo* de la race 2, contournant la résistance *Xa4*, ont développées différents mécanismes d'échappement, reposant sur des mutations telles que le décalage du cadre de lecture, une substitution non synonyme, ou encore un polymorphisme d'expression. Ces mutations toucheraient des fonctions de pathogénicité connues telles que le système de sécrétion, la dégradation de la paroi cellulaire, la détoxification des espèces réactives de l'oxygène et la production de lipopolysaccharides (Quibod et al. 2020).

b) Contournement de la résistance *Xa7*: expansion de la race 9b

Vera Cruz et ses collaborateurs (2000) ont évalué au champs l'adaptation de souches de *Xoo* avirulentes sur des lignées quasi-isogéniques de riz portant les gènes de résistance *Xa4*, *Xa7* et *Xa10* individuellement, et ceux sur trois années, sur deux sites endémiques de la BLB aux Philippines. De ces tests en sont ressorties les conclusions suivantes: sur IR24, variété sensible, ainsi que sur IRBB4 (portant *Xa4*) et IRBB10 (portant *Xa10*), le développement de la maladie est sévère. Au contraire sur IRBB7 (portant *Xa7*) peu de symptômes sont observés. Ces résultats suggèrent alors que *Xa7* reste effectif, dans une moindre mesure, contre les souches de *Xoo* présentes dans ces régions portant *avrXa7* (Vera Cruz et al. 2000). Les souches isolées sur IRBB7 regroupent diverses sous-classes de *Xoo* de la race 9, qui est virulente sur IRBB7. La race 9 se divise en plusieurs sous-groupes allant de la race 9a à 9d, déterminés en fonction i) de la longueur des lésions qu'elle provoque sur IRBB7, ii) de la présence ou absence du système de modification de la restriction *XorI* et iii) de la présence ou l'absence du fragment BamHI correspondant à *avrXa7*. Les souches de la race 9a et 9d n'ont plus la possibilité d'induire *Xa7* dû à des réarrangements génétiques indéterminés ayant provoquer un polymorphisme au locus *avrXa7*, ce qui leur permet de contourner la résistance médiée par *Xa7*. Concernant les souches de la race 9c, elles présentent des mutations à l'extrémité 3' de l'allèle *avrXa7*, en comparaison avec la version connue de *avrXa7*, ce qui fait que comme les souches de la race 9a et 9d elles évitent la résistance médiée par *Xa7*. Et pour finir, les souches de la race 9b possèdent une version intacte de l'allèle *avrXa7* et provoquent de la maladie elles aussi sur IRBB7. Toutefois, Vera Cruz et ses collaborateurs suggèrent que l'agressivité réduite de ces souches sur IRBB7, en comparaison avec les souches des races 9a, 9c et 9d, leur a permis de se maintenir au champs année après année (Vera Cruz et al. 2000). En 2016, Quibod et ses collaborateurs décrivent l'émergence de la race 9b, qui est devenue le groupe le plus répandu après les épidémies de 1992 aux Philippines. Contrairement à ce qui semble être à l'origine de l'expansion de la race 2 (contournement de *Xa4*), pour Quibod et ses collaborateurs il semble très peu probable que le déploiement d'un seul gène de résistance puisse expliquer l'expansion de la race

9b dans tout l'archipel des Philippines. Outre l'aptitude apparente de la race 9b, ils supposent que des changements dans les modes de culture, l'utilisation d'engrais ou des changements environnementaux peuvent avoir contribué à son expansion (Quibod et al. 2016). Cependant à ce jour, le mécanisme d'évitement de la résistance médiée par *Xa7* par les souches de la race 9b, qui possèdent toujours *avrXa7*, reste encore inconnu. Une hypothèse a été émise toutefois, et un supposé nouveau TALE tronqué pourrait être impliqué dans l'évitement de cette résistance (communication personnelle de Perez-Quintero Alvaro Luis).

c) Contournement de la résistance Xa1/Xo1 : les TALE interférant/tronqués

Parmi la famille des TALE il existe certains effecteurs, caractérisés par des délétions et l'absence de certains domaines fonctionnels, qui jouent un rôle important dans la pathogénicité sans impliquer d'activation transcriptionnelle. Cette catégorie de TALE, connus sous le nom de iTALE (pour "interfering TALE") ou truncTALE (pour "truncated TALE"), ont été rapportés jusqu'à présent uniquement chez des souches de *Xoo* et *Xoc* Asiatiques, respectivement. Leur nom respectif provient de leur rôle d'interférence dans la reconnaissance des TALE par les protéines R de l'hôte, ou encore de leur architecture de TALE tronqué. La différence structurelle entre les TALE classique et les iTALE/truncTALE se base des délétions au niveau de la région N-terminale (après les 306 premiers nucléotides, préservant ainsi le signal d'exportation), ainsi qu'au niveau de la région C-terminale où certains NLS sont encore présents mais ce qui n'est plus le cas pour le domaine d'activation. (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). En l'absence d'iTALE/truncTALE, les NB-LRR Xa1 ou Xo1 reconnaissent les TALE et déclenchent la résistance (Figure 16.b). Inversement, l'injection d'un iTALE/truncTALE dans la cellule hôte par l'agent pathogène permet aux TALE traditionnels d'éviter la reconnaissance médiée par Xa1 ou Xo1 et d'entraîner le déclenchement ultérieur de la maladie (Figure 16.c, (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). Read et ses collaborateurs (2020) ont mis en avant grâce à une expérience de co-immuno-precipitation (Co-IP) l'interaction du TruncTALE Tal2h avec la protéine NB-LRR Xo1. Cependant, si cette interaction est directe ou non reste à être déterminé, et conduit à émettre l'hypothèse que les TruncTALE/iTALE sont en capacité d'empêcher la reconnaissance des TALE par les NB-LRR Xo1/Xa1. Toutefois, l'interaction entre Xo1 et les TALE traditionnels n'a pu être démontré par Co-IP ; ceci pourrait être la conséquence d'une interaction trop transitoire, ou instable, ou bien encore que le phénotype de HR ne permet pas de l'observer (Read et al. 2020b).

6. Les applications des TALE en science

a) Les outils bioinformatiques développés

i. Prédiction des cibles de TALE

Des logiciels bioinformatiques ont été développés depuis la découverte du code TALE, permettant de prédire les cibles potentielles des TALE.

Target Finder est un outil de la suite TAL Effector Nucleotide Targeter (TALE-NT) (<http://tale-nt.cac.cornell.edu/> ; Doyle et al. 2012), qui identifie les sites de liaison potentiels pour un TALE avec une séquence RVD spécifiée par l'utilisateur, en utilisant une matrice de poids de position basée sur les fréquences d'association RVD-nucléotide observées dans les TALE naturels (Doyle et al. 2012). La version web de l'outil possède des génomes et des séquences promotrices pour plusieurs organismes modèles préchargés pour la recherche, mais il accepte également les séquences téléchargées ou collées dans une zone de texte sur le site au format FASTA.

Talvez (<http://bioinfo-prod.mpl.ird.fr/cgi-bin/talvez/talvez.cgi>) recherche les sites de liaison possibles à l'aide d'une matrice de poids de position (PWM) similaire à celle utilisée par Target Finder (Pérez-Quintero et al. 2013). Il diffère de Target Finder en attribuant à certains RVD rares les mêmes comptes d'observation que le RVD commun avec le même résidu en 13ème position, connu pour être le seul déterminant de la spécificité de liaison TALE-ADN. Plusieurs séquences promotrices végétales et fongiques sont préchargées sur le site pour la recherche, ainsi qu'un ensemble de séquences en RVD et un ensemble de séquences nucléotidiques formatées en FASTA dans lesquelles il est possible de rechercher les cibles potentielles de ces chaînes de RVD.

TALgetter (<http://www.jstacs.de/index.php/TALgetter>) fait partie du cadre Jstacs (Grau et al. 2012) et identifie les sites de liaison potentiels en utilisant un modèle de mélange local (Grau et al. 2013b). Dans ce modèle, en plus d'une probabilité pour chaque RVD de s'apparier avec chaque nucléotide, chaque RVD est considéré comme ayant une "importance", indiquant la probabilité qu'il interagisse avec l'ADN. TALgetter accepte en entrée un fichier FASTA de séquences d'ADN pour rechercher des sites de liaison, et la séquence RVD d'un seul effecteur TAL pour interroger les séquences d'ADN. Les génomes de plusieurs animaux modèles, du riz et d'*A. thaliana* sont préchargés pour la recherche, ainsi que les séquences promotrices du riz.

ii. Design des TALE

La séquence en RVD étant modifiable à souhait par des techniques de clonage appropriées, cette découverte a permis le développement de TALE artificiels (ArTALE ou dTALE pour "designerTALE"). Dessinés pour se lier de façon spécifique à une EBE d'intérêt, les ArTALE permettent d'induire n'importe quel gène et représentent un outil idéal pour comprendre le rôle des

gènes de résistance et de sensibilité chez l'hôte. Pour aider à la conception de ces ArTALE/dTALE des outils bioinformatiques ont été développés.

TAL Effector Targeter par exemple, conçoit des réseaux de répétitions (RVD) pour cibler des séquences d'ADN particulières. Il est disponible à la fois en tant que programme open source téléchargeable et en tant qu'outil web faisant partie de la suite TALE-NT (Doyle et al. 2012). Une caractéristique utile de TAL Effector Targeter est sa capacité à évaluer la spécificité des TALE conçus en prédisant les sites de liaison dans la séquence cible prévue, ainsi qu'à indiquer les cibles non désirées ("off-targets").

L'outil d'assemblage de séquences de plasmides TAL (ou "**TAL Plasmids Sequence Assembly Tool** ") (<http://bit.ly/assem-bleTALsequences>) est un site web développé par le laboratoire Bao de l'Institut de technologie de Géorgie qui génère les séquences d'ADN plasmidique nécessaires pour fabriquer des constructions de TALE en utilisant différentes méthodes d'assemblage.

iii. La suite QueTAL

La suite QueTAL a été développée pour offrir des outils sur mesure pour la comparaison des gènes *tal* : DisTAL et FuncTAL. Ces outils permettent d'aligner et de classer les séquences de gènes *tal* en fonction de leur région centrale de répétition (Pérez-Quintero et al. 2015).

Le programme DisTAL considère chaque répétition d'un TALE comme une unité, il transforme alors la séquence d'un TALE en une séquence de répétitions codées et fait des alignements par paire entre plusieurs séquences, afin d'inférer des relations phylogénétiques entre les gènes et construire des arbres. L'algorithme utilisé pour comparer les séquences était initialement conçu pour comparer les séquences microsatellites (ARLEM version 1.0, (Abouelhoda et al. 2010). Le programme FuncTAL, quant à lui, a pour but de trouver des TALE ayant des capacités de liaison à l'ADN similaires. Il calcule les corrélations entre les matrices de poids de position de la séquence d'ADN cible potentielle, prédite à partir de la séquence en RVD, et construit des arbres basés sur ces corrélations. Ensemble, ces programmes ont pour but d'aider les chercheurs à déduire les relations évolutives et fonctionnelles au sein et entre les groupes d'effecteurs TAL (Pérez-Quintero et al. 2015).

Par exemple, l'outil DisTAL a été utilisé par Lang et ses collaborateurs (2019) pour une étude de génomique comparative, ce qui leur a permis de regrouper les souches de *X. oryzae* pv. *leersiae* et de *Xoo* Africaines dans un même sous-groupe, comprenant également des *Xoc*. Cet outil a également permis de classer les TALE de *X. oryzae* pv. *leersiae* en 12 groupes (Lang et al. 2019).

b) TALE et édition de génome

Les TALE accompagnés d'autres protéines ont été utilisés non seulement pour l'activation ciblée de gènes, comme décrit précédemment, mais aussi pour la répression de gènes, la modification de la chromatine, le marquage de la chromatine pour la visualisation et la capture (Miyanari et al. 2013; Byrum et al. 2013; Fujita et al. 2013), et plus largement, pour l'édition du génome, en tant que TALE nucléases (TALEN pour "TAL Effector Nuclease") (Voytas and Joung 2009; Bogdanove and Voytas 2011). La technologie TALEN est un autre outil important issu de la découverte du code TALE, qui permet entre autres de créer des cassures double-brin dans l'ADN à un endroit précis du génome, quant fusionné à un domaine nucléase (e.g. FokI) (Voytas and Joung 2009; Bogdanove and Voytas 2011). La conception des TALEN demandant certaines exigences, c'est pourquoi plusieurs outils informatiques ont été développés pour aider à la conception, ainsi qu'à l'assemblage et à la prédiction des cibles non désirées (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009; Christian et al. 2010; Miller et al. 2010; Streubel et al. 2012; Meckler et al. 2013).

TALEN Targeter, qui fait partie de la suite d'outils TALE-NT (Doyle et al. 2012), conçoit des TALEN qui ciblent des séquences spécifiées par l'utilisateur. Une caractéristique clé de TALEN Targeter est sa capacité à évaluer la spécificité des TALEN conçus en prédisant tous les sites cibles potentiels dans la séquence d'entrée. **TALENoffer** (<http://www.jstacs.de/index.php/TALENoffer>) est une extension du modèle TALgetter qui prédit les sites cibles pour les TALEN (Grau et al. 2013a). D'autres logiciels de design de TALEN sont disponibles : **Mojo Hand** (<http://talendesign.org/>) (Neff et al. 2013), **E-TALEN** (<http://www.e-talen.org/>) (Heigwer et al. 2013), **SAPTA** (http://baolab.bme.gatech.edu/Research/Bioinformatic-Tools/TAL_targeter.html) (Lin et al. 2014), et **PROGNOS** (<http://baolab.bme.gatech.edu/Research/BioinformaticTools/prognos.html>) qui prédit les cibles non désirées ("off-targets") des TALEN et fournit des séquences d'amorces pour le séquençage d'amplicons à sur la cible après le traitement TALEN (Fine et al. 2014). Il est hébergé sur le même site web que SAPTA mais n'est pas intégré à SAPTA.

En 2012, une nouvelle découverte vient révolutionner la biologie : le mécanisme CRISPR-Cas9 de défense bactérienne contre les virus (Jinek et al. 2012). Alors que l'outil de biotechnologie TALE, TALEN, est en plein essor, l'utilisation du système CRISPR-Cas9, entre autres pour éditer les boîtes cibles des TALE, monte en flèche, provoquant une véritable révolution dans le domaine de la biologie. La nucléase Cas9 est contrôlée dans sa spécificité de cible par l'intégration d'un ARN guide. Dans le système naturel, cet ARN est formé de deux composants exprimés à partir du locus CRISPR ("Clustered Regulatory Interspaced Short Palindromic Repeat") : le crRNA contenant la séquence cible et un tracrRNA impliqué dans le traitement du pré-crRNA et l'assemblage du

complexe Cas9. Des méthodes alternatives ont été explorées pour fusionner ces deux composants et les exprimer à partir d'un seul gène, créant ainsi la séquence de l'ARN guide ou ARNsg ("single guide") (Hsu et al. 2013). Au sein de celle-ci, une région de 20 pb, appelée espaceur, guide la nucléase Cas9 vers une séquence cible complémentaire, appelée protospacer. La spécificité de la cible est modifiable en changeant la séquence de l'espaceur. Depuis CRISPR-Cas9, les TALEN semblent être devenus un lointain souvenir dans l'édition du génome. Néanmoins, les technologies basées sur les TALEN continuent d'être utilisées et trouvent une place dans les applications où elles offrent des avantages par rapport au système breveté CRISPR-Cas9 (De Lange et al. 2014; Lebar and Jerala 2016).

VI. *Xanthomonas oryzae*

1. L'espèce *X. oryzae*

a) Origines et répartitions

L'espèce *X. oryzae* est composée de plusieurs pathovars/sous-espèces, dont les origines et répartitions sont variées. La BLB ("Bacterial Leaf Blight" ou bactériose vasculaire) a été caractérisée pour la première fois dans la préfecture de Fukuoka au Japon en 1884. On pensait à l'origine qu'elle était causée par un sol acide (Tagami and Mizukami 1962; Mew 1989). En 1909, des bactéries ont été isolées des gouttes de rosée de feuilles de riz infectées, et la maladie a été reproduite en inoculant ces gouttes à des feuilles saines. Peu après, son étiologie en tant que maladie bactérienne a été établie, et l'agent causal a été isolé et classé comme *Bacillus oryzae* (cité par Mizukami and Wakimoto 1969). La bactérie a été rebaptisée *Pseudomonas oryzae*, puis *Xanthomonas oryzae* (Ishiyama, 1922). En 1978, elle a été reclassée sous le nom de *X. campestris* pv. *oryzae* (Dye, 1978). Concernant la BLS ("Bacterial Leaf Streak" ou bactériose à stries foliaires) cette maladie bactérienne a été découverte pour la première fois aux Philippines en 1918 et nommée "bacterial stripe" (cité par Ou, 1972) bien qu'elle ait été appelée à tort "bacterial blight" pendant plusieurs années. En 1957, Fang et ses collaborateurs caractérisent de nouveau la maladie et la distinguent de la bactériose vasculaire; elle est nommée bactériose à stries foliaires. L'agent causal de cette maladie reçoit alors le nom de *Xanthomonas oryzicola* (cité par Ou, 1972). L'agent pathogène a ensuite été renommé *X. translucens* f. sp. *oryzae* (cité par Ou, 1972), puis *X. translucens* f. sp. *oryzicola* et enfin *X. campestris* pv. *oryzicola* (Ou 1985). En 1990, les deux pathogènes, de la BLB et BLS, ont été élevés à leur statut actuel de nouvelle espèce et nommés *X. oryzae* pv. *oryzae* et *X. oryzae* pv. *oryzicola* (Swings et al. 1990; Goto 1992). Ces pathovars appartiennent à la famille des *Xanthomonadaceae* et sont de la classe des *Gammaproteobacteria*. La BLB et la BLS sont endémiques dans une grande partie de l'Asie et dans certaines parties de l'Afrique de l'Ouest. La BLB est répandue dans les zones tropicales et tempérées, et a également été signalée en Australie,

en Amérique latine et dans les Caraïbes (Mew 1993). En Afrique, la BLB a été signalée pour la première fois au Mali en 1979 (Buddenhagen 1979), puis elle a ensuite été rapportée au Sénégal, au Niger, au Nigeria, au Gabon, en Mauritanie, au Bénin, au Cameroun, et plus récemment au Burkina Faso (Trinh 1980; Reckhaus 1983; Manser 1984; Jones et al. 1991; Gonzalez et al. 2007). La BLS quant à elle, est limitée en grande partie à l'Asie tropicale et subtropicale, y compris le sud de la Chine, la Thaïlande, la Malaisie, l'Inde, le Vietnam, les Philippines et l'Indonésie, mais elle touche également les régions rizicoles du nord de l'Australie (Singh et al. 1980; Ou 1985; Sigee 1993; Awoderu et al. 2008) et est devenue récemment un problème important dans certaines parties de l'Afrique de l'Ouest (Wonni et al. 2011). Depuis ces dernières années la BLS a aussi été identifiée à Madagascar (Poulin et al. 2014), en Ouganda (Afolabi et al. 2014), au Burundi (Afolabi et al. 2016) et en Côte d'Ivoire (Diallo et al. 2021).

Bien que *X. oryzae* ne soit pas considérée comme endémique aux Etats-Unis (Niño-Liu et al. 2006), une bactérie semblable a été isolée du riz et d'une graminée pérenne *Leersia hexandra* dans des rizières du Texas et de Louisiane en 1987 (Jones 1989). Un projet de séquençage génomique de deux souches américaines de *Xanthomonas* (X11-5A (Texas) et X8-1A (Louisiane)) a révélé que les souches américaines forment un nouveau clade au sein de l'espèce *X. oryzae*, distincte de toutes les souches connues pour causer des pertes de rendement importantes. Les souches américaines sont peu virulentes sur le riz (Jones 1989) et génétiquement distinctes des pathovars caractérisés jusqu'alors de *X. oryzae* (*Xoo* et *Xoc*) (Ryba-White et al. 1995). Il a été démontré que la plupart des souches américaines sont porteuses d'un ou plusieurs plasmides et sont dépourvues de TALE (Ryba-White et al. 1995). Ces résultats ont conduit à supposer que les souches américaines de *Xanthomonas* étaient très divergentes de celles trouvées en Asie et n'avaient pas pénétré aux États-Unis dans un passé récent.

Une autre espèce, *X. campestris* pv. *leersiae* (*Xcl*) renommée ultérieurement *X. oryzae* pv. *leersiae* (*Xol*), a été décrite pour la première fois en 1957 (Fang et al. 1957). Cette bactérie provoque une strie bactérienne sur *Leersia hexandra*, une herbe commune que l'on trouve dans le sud des États-Unis, en Amérique du Sud, en Afrique et en Asie. Il est intéressant de noter que cette plante et d'autres graminées de ce genre, comme *Leersia sayanuka*, *Leersia oryzoides* et *Leersia japonica*, sont sensibles à *Xoo* (Noda and Yamamoto 2008) et peuvent servir de réservoirs pour l'inoculum (Gonzalez 1991). Par rapport à la souche virulente de *Xoo*, PXO99^A, les souches *Xol* sont moins agressives sur le riz, et provoquent des stries foliaires moins étendues sur plusieurs variétés de riz. Les études de Lang et ses collaborateurs montrent que *Xol* est un pathogène de *Leersia hexandra* et est légèrement pathogène pour diverses variétés de riz, mais qu'elle ne provoque pas de maladie sur l'orge ou le blé, et que certaines variétés de riz présentent une résistance à *Xol* (Lang et al. 2019).

NIL	<i>Xa</i> gene	New <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> races									Effectiveness of resistance (%)	
		A3	A4	A5		A6		A7	A8	A9	W- <i>Xa23</i>	N- <i>Xa23</i>
				A5-1	A5-2	A6-1	A6-2					
IR 24	<i>Xa18</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 1	<i>Xa1</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	67	57
IRBB 3	<i>Xa3</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	89	86
IRBB 4	<i>Xa4</i>	R	R	R	R	S	S	R	S	S	56	57
IRBB 5	<i>xa5</i>	R	R	S	S	S	S	S	S	S	22	29
IRBB 7	<i>Xa7</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 8	<i>xa8</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 10	<i>Xa10</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 11	<i>Xa11</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 13	<i>xa13</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 14	<i>Xa14</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 21	<i>Xa21</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 23	<i>Xa23</i>	R	S	S	R	R	S	S	S	S	33	–
Strains with <i>Xa23</i> (n)		5	6	7	3	2	11	2	5	4	–	–
Strains without <i>Xa23</i> (n)		5	6	10		13		2	5	4	–	–

Tableau 3. Races de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Africaines sur 12 lignées de riz quasi-isogéniques (NILs) contenant un seul gène de résistance dans le fond génétique IR24.

Quarante-cinq souches de *X. oryzae* pv. *oryzae* (41 souches de cette étude et quatre souches de référence) se regroupent en sept races notées A3 à A9. En utilisant *Xa23* dans le criblage des NILs, les races les plus dominantes et les plus hétérogènes (A6 et A5) sont subdivisées en deux sous-clusters de virulence. Chaque race est caractérisée par son profil de virulence sur les NILs et le nombre de souches lui appartenant est indiqué. La capacité des gènes *Xa* à contrôler les différentes races est affichée. W-*Xa23* = avec *Xa23*, N-*Xa23* = sans *Xa23*, R = résistant (longueur des lésions \leq 5 cm), et S = sensible (longueur des lésions $>$ 5 cm). D'après (Tekete et al. 2020).

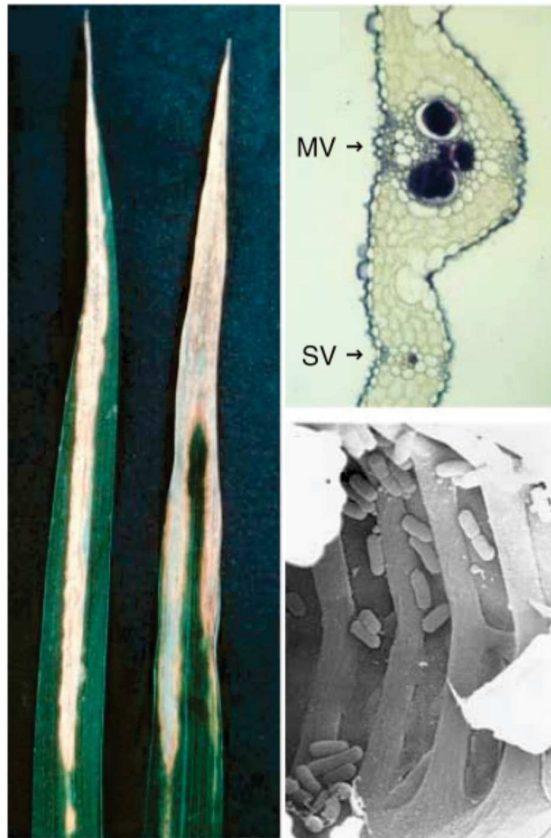
b) Diversité de *X. oryzae*

Les souches de *Xoo* peuvent être classées en différentes races en fonction des phénotypes de résistance observés sur des variétés de riz définies (Gonzalez et al. 2007). Des lignées quasi-isogéniques de riz (NIL également connues sous le nom de lignées IRBB) sont disponibles pour de nombreux gènes de résistance à la BLB, connus également sous le nom de *Xa*, y compris des lignées possédant un ou plusieurs gènes *R* (Ogawa et al. 1991; Huang et al. 1997). Les lignées IRBB ont été construites avec le fond génétique sensible de la variété IR24 (*indica*) dans lequel ont été introgressés les gènes de résistance *Xa* (e.g. les lignées IRBB1, IRBB2, etc, possède respectivement le gène de résistance *Xa1*, *Xa2*, etc). Une collaboration entre l'IRRI (Institut international de recherche sur le riz, Manilla, Philippines) et le Japon a permis d'établir des NIL, comme les IRBB, aussi dans le fond Toyonishiki (*japonica* tempéré), et les deux types de NIL (fond génétique IR24 et Toyonishiki) sont largement utilisées pour la caractérisation des races de *Xoo* (Ogawa 1993). À ce jour, plus de 30 races de *Xoo* Asiatiques ont été découvertes, ainsi que 9 races de souches Africaines de *Xoo* (Tableau 3, (Tekete et al. 2020).

Au laboratoire, les souches des deux pathovars (*Xoo* et *Xoc*) sont identifiées par des méthodes d'inoculation sur des plantes hôtes sensibles et différenciées en fonction du type de symptômes phénotypiques qu'elles présentent (Figure 19, (Yang and Bogdanove 2013). Outre l'observation des symptômes, et pour un diagnostic plus fiable, d'autres outils d'analyse de la diversité inter-espèces ont été développés tels que : la PCR multiplex, le diagnostic par LAMP ("loop-mediated isothermal amplification"), l'utilisation de marqueurs moléculaires de type AFLP, RFLP, RAPD ou encore la technique de MLST ("multilocus sequence typing"). En plus de la discrimination des pathovars, d'autres tests ont été développés pour différencier les souches de *X. oryzae* d'Afrique et d'Asie. En 2015, Poulin et ses collaborateurs développent un outil d'analyse de la diversité et de la structure des populations de *Xoo* : MLVA-16 (Multi locus VNTR Analysis) permettant de discriminer les souches de *X. oryzae*, ainsi que pour la surveillance de la BLB et de la BLS à différentes échelles temporelles et géographiques (Poulin et al. 2015).

En 2019, Lang et ses collaborateurs calculent l'ANI ("average nucleotide identity") entre cinq souches de *Xol* et tous les génomes de *X. oryzae* entièrement séquencés (Rodriguez-R and Konstantinidis 2016; Lang et al. 2019). Cette analyse a montré que les souches de *Xol* sont identiques à 99-100 % les unes aux autres, et qu'elles sont identiques entre 97 % et 99 % aux souches US de *Xo*, aux *Xoc* et aux *Xoo*, et se rapprochant des *Xoc* à 98,5 %. Par ailleurs, les *Xol* sont 76-91% similaires aux autres espèces de *Xanthomonas*. La prédiction computationnelle des ET3 parmi les protéines annotées dans chaque génome a révélé que le répertoire d'ET3 non-TALE de *Xol* ressemble plus étroitement à celui de *Xoc*. Néanmoins, certaines caractéristiques sont uniques à *Xol*. Il a été rapporté que les souches de *Xol* contenaient 12 ou 13 *tal* chacune, ce qui est

*Xanthomonas
oryzae* pv. *oryzae*



*Xanthomonas
oryzae* pv. *oryzicola*

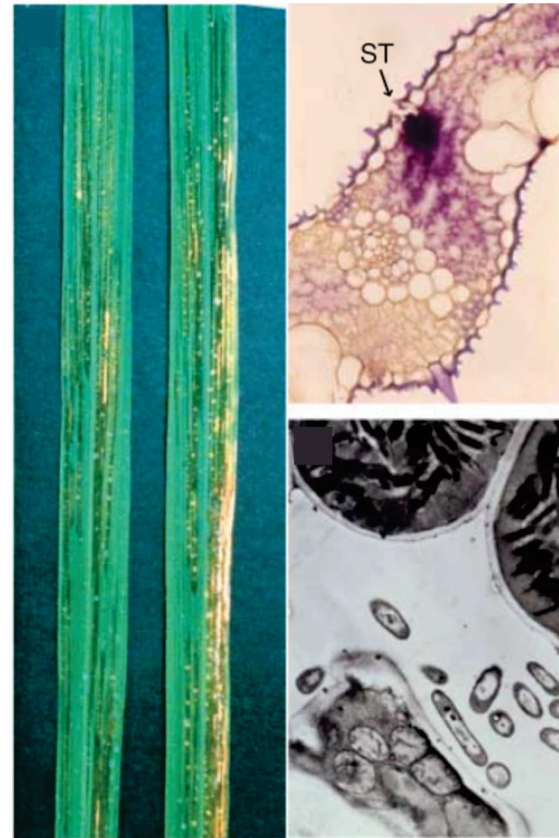


Figure 19. Symptômes typiques provoquées par *Xoo* et *Xoc* sur le riz, et leur localisation cellulaire lors de l'infection.

Spécificité du tissu hôte des pathovars de *Xanthomonas oryzae*. Panel de gauche : Feuilles de riz avec des lésions de bactériose s'étendant le long des nervures à partir de l'extrémité et des bords de la feuille, résultant de l'invasion du xylème via les hydathodes par *X. oryzae* pv. *oryzae*. Coupe transversale d'une feuille de riz infectée par *X. oryzae* pv. *oryzae*, colorée pour montrer l'emplacement des cellules bactériennes, apparaissant en bleu foncé à violet dans les vaisseaux du xylème de la nervure moyenne (MV) et d'une nervure secondaire (SV). Micrographie électronique à balayage de cellules de *X. oryzae* pv. *oryzae* dans un vaisseau du xylème d'une feuille de riz.

Panel de droite : Feuilles de riz présentant des symptômes de stries foliaires causés par la colonisation du tissu internervaire via les stomates par *X. oryzae* pv. *oryzicola*. Coupe transversale d'une feuille de riz infectée par *X. oryzae* pv. *oryzicola* colorée montrant la colonisation bactérienne de la chambre sous-matale et du parenchyme du mésophylle. Stomate (ST). Micrographie électronique à transmission des cellules de *X. oryzae* pv. *oryzicola* dans les espaces intercellulaires du parenchyme mésophylle d'une feuille de riz. D'après (Nino-Liu et al. 2006).

plus que les neuf *tal* par génome trouvés chez les *Xoo* africaines, et moins que ce qui est communément trouvé chez les *Xoc* (22-29 *tal*) et *Xoo* asiatiques (13-20 *tal*). Aucun TALE tronqué n'a été identifié dans les génomes de *Xol*. Par ailleurs, en comparant les régions centrales des TALE présents chez les souches de *Xoo*, *Xoc* et *Xol*, une nouvelle combinaison de RVD "TI", non rapportée précédemment chez d'autres espèces, a été identifiée (Lang et al. 2019).

2. *X. oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

L'agent responsable de la bactériose vasculaire du riz, considérée comme la maladie la plus dévastatrice du riz en Asie, est la bactérie à gram négatif *Xoo*. La BLB peut en effet causer jusqu'à 50 % de perte de rendement en fonction de la variété de riz, du stade de croissance de l'infection, de l'emplacement géographique et des conditions environnementales (Liu et al. 2014). *Xoo* colonise les feuilles via les hydathodes, et/ou via les blessures. Une fois entrée, elle se multiplie dans l'espace intercellulaire sous-jacent et se propage de façon systémique dans le reste de la plante via les vaisseaux du xylème. Les symptômes caractéristiques de la BLB sont des lésions jaunes ou vertes foncées aqueuses puis nécrotiques qui se propagent le long de la feuille au fur et à mesure de l'avancée bactérienne. Ceci entraîne un dessèchement des tissus photosynthétiques affectant le rendement en grain (Niño-Liu et al. 2006). Les TALE sont des facteurs de virulence majeurs au sein de ce pathosystème.

3. Les souches Africaines de *Xoo* vs les souches Asiatiques de *Xoo*

a) Les différences générales entre les souches de *Xoo* Africaines et Asiatiques

La plupart des études sur les souches de *Xoo* ont été réalisées sur les souches Asiatiques. Les souches Africaines de *Xoo* découvertes plus récemment (1980) sont génétiquement éloignées des souches Asiatiques et étroitement apparentées aux bactéries du pathovar *oryzicola* (*Xoc*) (Figure 20). Une caractéristique particulière des *Xoo* Africaines est leur TALome restreint par rapport aux *Xoo* Asiatiques, avec respectivement jusqu'à 9 et jusqu'à 19 copies. Par ailleurs, aucun TALE n'est conservé entre les souches Africaines et Asiatiques (Lang et al. 2019). En 2018, l'analyse comparative du TALome de plusieurs souches Africaines a mis en évidence que, malgré la haute conservation des TALomes africains, plusieurs groupes TALE sont polymorphes au niveau de leur RVD (Figure 21, (Doucouré et al. 2018; Tran et al. 2018). Les *Xoo* Africaines se distinguent également par le nombre et le type de races qu'elles constituent (9 vs >30 pour les Asiatiques), et dont aucune n'a jamais été rapportée en Asie (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020).

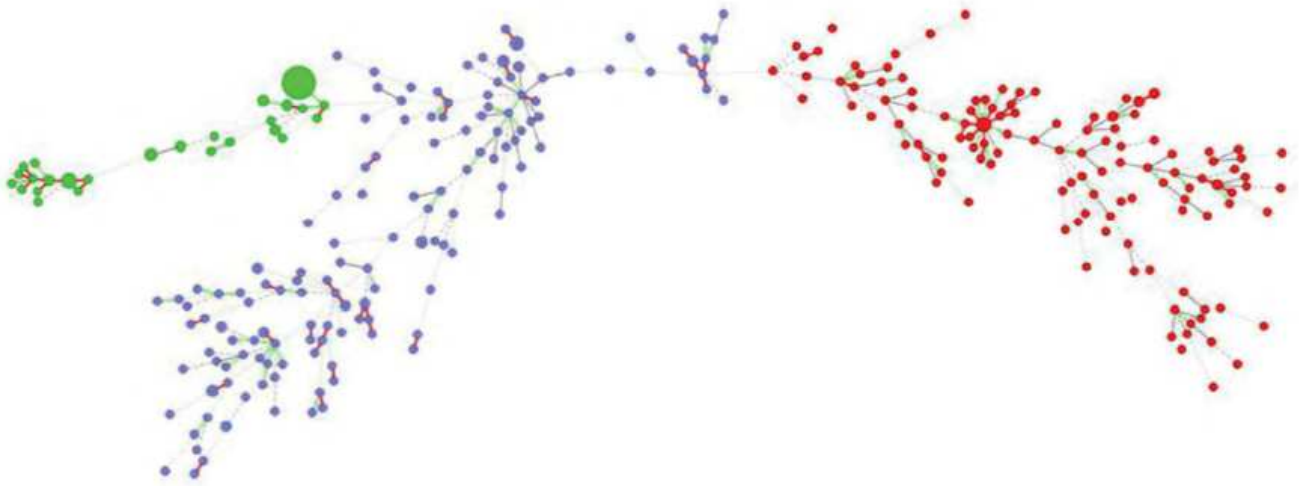


Figure 20. "Minimum spanning tree" d'une collection mondiale de *Xanthomonas oryzae*.

L'outil MLVA16 ("Multi Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis 16 loci panel") a permis l'analyse de 16 locus de *Xanthomonas oryzae* à partir de "variable number tandem repeat" (VNTR). Les cercles sont proportionnels au nombre de souches par haplotype, et cette représentation permet d'observer les distances génétiques des différentes souches de *Xo*. Vert : *Xoo* d'Afrique, rouge : *Xoo* d'Asie et bleu : *Xoc*. Le MST a été généré à l'aide de Bionumerics 7.1. D'après (Poulin et al. 2015).

Bien que différentes sur un bon nombre de traits, les souches Africaines et Asiatiques de *Xoo* déclenchent la maladie chez le riz via le même mécanisme, et l'induction de cibles communes telles que *OsSWEET14* et *OsTFX1* (Figure 18).

b) Déclenchement de la résistance : des cibles diverses

Le pathosystème Riz-*Xoo* constitue un système modèle pour l'étude des interactions plantes-pathogènes au niveau moléculaire. Des recherches intensives au cours de la dernière décennie ont révélé que la résistance et la sensibilité du riz à *Xoo* sont généralement contrôlées par des interactions moléculaires entre les effecteurs de *Xoo* et ses gènes cibles chez le riz. Actuellement, 46 gènes *R* à *Xoo* ont été découverts chez le riz (Cheema et al. 2008; Busungu et al. 2016; Vikal and Bhatia 2017). Ces gènes ont été identifiés à partir de populations mutantes, d'espèces de riz cultivées et sauvages et confèrent une résistance contre différentes souches de *Xoo* (Tableau 4). Sur les 46 gènes, 16 sont récessifs et 12 ont été clonés et caractérisés. Les gènes de résistance identifiés codent pour différents types de protéines qui suggèrent de multiples mécanismes de résistance à *Xoo* (Liu et al. 2011c; Tian et al. 2014). La majorité de ces gènes confèrent une résistance complète, spécifique à la race de l'agent pathogène. Parmi les 12 gènes *R* du riz, qui contrôlent *Xoo*, caractérisés à ce jour, neuf (*Xa1*, *xa5*, *Xa7*, *Xa10*, *xa13*, *Xa23*, *xa25*, *Xa27*, *xa41*) médient la résistance associée aux TALE de l'agent pathogène, et seulement trois (*Xa3/Xa26*, *Xa4* et *Xa21*) codent pour des protéines kinases. *Xa4*, par exemple, est un gène dominant de résistance à la BLB et a été cartographié sur le chromosome 11 en utilisant le marqueur de liaison RM224 (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Récemment, Hu et al. (2017) ont montré que *Xa4* code pour une protéine kinase associée à la paroi cellulaire ("wall-associated kinase" - WAK) (Hu et al. 2017). L'activation de *Xa4* favorise la synthèse de la cellulose, par augmentation de l'expression du gène codant pour la Cellulose synthase A (CesA). Elle empêche aussi le relâchement de la paroi cellulaire inhibant l'expression du gène codant pour des expansines, aboutissant au renforcement de cette dernière. La caractérisation *in vitro* de la protéine XA4 a révélé que son domaine kinase est capable d'autophosphorylation. Par ailleurs, les variétés dans lesquelles a été introgressé *Xa4* ont manifesté une résistance à large spectre et durable, pratiquement à tous les stades végétatifs de la culture. La protéine XA21, quant à elle, a le format classique d'un récepteur kinase, avec un domaine LRR extracellulaire, une région membranaire et un domaine protéique kinase intracellulaire (Ellis and Jones 1998). Ce récepteur reconnaît une protéine sulfatée sur son résidu tyrosine (Y41), nommé RaxX, activant ainsi l'expression de gènes marqueurs des voies de défense, la production de ROS et d'éthylène (Pruitt et al. 2015).

Parmi les neuf gènes qui médient une résistance TALE-dépendante, quatre sont des gènes de type *E* (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*) uniquement induits par les TALE des souches Asiatiques de *Xoo* (Zhu

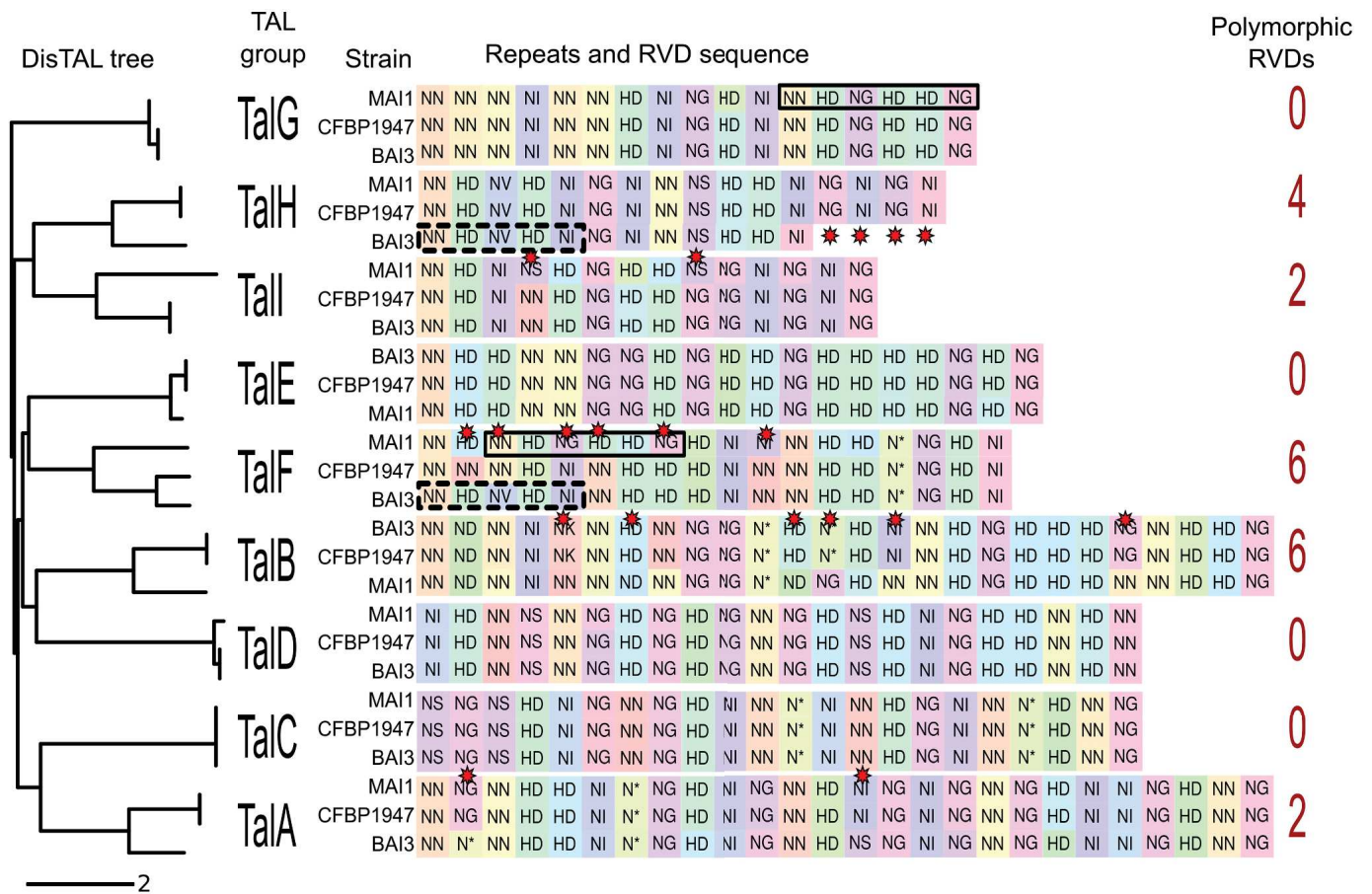


Figure 21. Représentation et alignement des séquences en RVD des TALE des souches Africaines MAI1, BAI3 et CFBP1947 de *Xoo*.

Les alignements en RVD des TALE et variants de chacune des trois souches sont représentés pour chacun des neuf groupes (TalA à TalI). Des couleurs de fond différentes pour un même RVD indiquent que les codons diffèrent. Les étoiles rouges indiquent des polymorphismes de RVD. Les rectangles en trait plein mettent en évidence les répétitions partagées par TalF et TalG de MAI1, ceux en pointillés soulignent ceux qui sont communs à TalF et TalH de BAI3. D'après (Tran et al. 2018).

et al. 1998; Gu et al. 2009; Wang et al. 2014a). Quatre sont des gènes récessifs induisant la résistance par perte de sensibilité (*xa5* (*OsTFIIA γ 5*), *xa13* (*OsSWEET11*), *xa25* (*OsSWEET13*) et *xa41* (*OsSWEET14*) (Römer et al. 2010; Liu et al. 2011c; Hutin et al. 2015b) et un seul est un gène de type NB-LRR (*Xa1*) (Yoshimura et al. 1998; Ji et al. 2016). Le faible nombre de gènes *R* codant pour des NB-LRR dans ce pathosystème est très particulier car les gènes *R* de type NB-LRR sont les principaux acteurs de la résistance à d'autres pathogènes. Par exemple dans le cas de *M. oryzae* avec *Pib* ou encore *Pi-ta*, qui codent pour des protéines NB-LRR reconnaissant respectivement *AvrPib* et *AvrPi-ta* (Liu and Wang 2016).

De manière intrigante, aucun gène *S* qui serait ciblé par les TALE *AvrXa10*, *AvrXa23* et *AvrXa27* des souches Asiatiques de *Xoo* n'a été identifié jusqu'à aujourd'hui. En revanche, *AvrXa7* joue un double rôle dans la sensibilité et la résistance, en induisant à la fois *OsSWEET14* et *Xa7* dans les variétés porteuses de ce dernier (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010). *AvrXa27* et *AvrXa23* sont conservés dans diverses souches de *Xoo* ; par conséquent, *Xa27* et *Xa23* ont été largement appliqués dans les programmes de sélection du riz, et les variétés qui en résultent présentent une résistance à large spectre contre les souches de *Xoo*. Par ailleurs, certains de ces gènes *R* ont été introgressés séparément ou de manière pyramidale chez le riz (Sundaram et al. 2007; Pandey et al. 2012).

Un profilage préliminaire des races de *Xoo* sur les lignées IRBB a rapporté le potentiel de *Xa4*, *xa5* et *Xa7*, ou de gènes co-ségrégant avec ces derniers, pour contrôler quelques *Xoo* Africaines du Burkina Faso, du Niger et du Cameroun, mais le spectre de résistance de ces gènes doit encore être évalué sur un plus grand ensemble de souches (Gonzalez et al. 2007). Il est intéressant de noter qu'une analyse plus récente d'un panel plus large de souches de *Xoo* du Mali a donné une image différente, soulignant que la NIL portant *Xa3* est capable de contrôler six des sept races dans ce pays, ce qui correspond à 89% des isolats testés (Tableau 3). De plus, *Xa1* apparaît comme un des deux gènes *R* les plus prometteur en termes de spectre de résistance pour la population malienne de *Xoo* (Tekete et al. 2020). En raison de la sélection artificielle et naturelle des gènes de résistance à la BLB, les bactéries continuent d'évoluer. Par conséquent, il est nécessaire de caractériser au mieux de nouvelles sources de résistances afin d'anticiper les contournements bactériens futurs.

Gene R	Chromosome	Localisation (kpb)	Position (cM)	Contrôle Xoo	Remarques	Références
<i>Xa1</i>	4	6,697	31 638 099 - 31 644 795	Asie, (Japon, race 1) et Afrique	Dominant, cloné et caractérisé	(Yoshimura et al. 1998)
<i>Xa2</i>	4	-	-	Asie (Japon, race 2A)	Dominant	(He et al. 2006)
<i>Xa3/Xa26</i>	11	3,414	28 399 360 - 28 402 773	Asie (Philippines, races 1, 2, 6)	Dominant, cloné et caractérisé	(Sun et al. 2004; Xiang et al. 2006)
<i>Xa4</i>	11	-	-	Asie (Philippines, race 1)	Dominant, cloné et caractérisé	(Petpisit et al. 1977)
<i>xa5</i>	5	6,261	437 010 - 443 270	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Petpisit et al. 1977)
<i>Xa6/xa3</i>	11	-	-	Asie (Japon)	Dominant	(Sidhu et al. 1978)
<i>Xa7</i>	6	-	-	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Chen et al. 2021; Luo et al. 2021)
<i>Xa8</i>	7	-	-	Asie	Récessif	Singh et al. 2002
<i>Xa9</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Ogawa 1988)
<i>Xa10</i>	11	0,943	22 203 734 - 22 204 676	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Tian et al. 2014)
<i>Xa11</i>	3	-	-	Asie (Japon, races 1B, 2, 3A, et 5)	Dominant	(Goto et al. 2009)
<i>Xa12</i>	4	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa13</i>	8	2,843	26 725 952 - 26 728 794	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa14</i>	4	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa15</i>	-	-	-	Asie	Récessif	Ogawa 1996
<i>Xa16</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa17</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa18</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa19</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa20</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa21</i>	11	3,595	20 802 924 - 20 806 518	Asie (race 6)	Dominant, cloné et caractérisé	(Song et al. 1995)
<i>Xa22(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa23</i>	11	0,943	22 203 734 - 22 204 676	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Wang et al. 2015)
<i>xa24</i>	2	-	-	Asie	Récessif	Khush and Angeles

						1999
<i>xa25(t)</i>	12	3,254	17 302 073 - 17 305 326	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Liu et al. 2011)
<i>xa26(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Lee et al. 2007)
<i>Xa27(t)</i>	6	-	-	Asie	Dominant cloné et caractérisé	(Gu et al. 2005)
<i>xa28(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Lee et al. 2007)
<i>Xa29(t)</i>	1	-	-	Asie	Dominant	(Tan et al. 2004)
<i>Xa30(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Cheema et al. 2008)
<i>xa31(t)</i>	4	-	-	Asie	Récessif	(Wang et al. 2009)
<i>xa32(t)</i>	11	-	-	Asie	Récessif	(Zheng et al. 2009)
<i>Xa33</i>	7	-	-	Asie	Dominant	(Natarajkumar and Mishra 2008)
<i>Xa33(t)</i>	-	-	-	Asie	Dominant	Korinsak et al. 2009
<i>xa34(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Chen et al. 2011)
<i>Xa35(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Guo et al. 2010)
<i>Xa36(t)</i>	-	-	-	Asie	Dominant	Miao et al. 2010
<i>Xa38</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Bhasin et al. 2011)
<i>Xa39</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Zhang et al. 2015)
<i>Xa40(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Kim et al. 2015)
<i>xa41(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif, caractérisé	(Hutin et al. 2015b)
<i>xa42</i>	3	-	-	Asie, (Japon race 1, 2A, 2B, 3, 4 et 5)	Récessif	(Busungu et al. 2018)
<i>Xa43(t)</i>	11	27 560 - 27 990	-	Asie	Dominant	(Kim and Reinke 2019)
<i>xa44(t)</i>	11	28 000 - 28 120	-	Asie	Récessif	(Kim 2018)
<i>Xa45(t)</i>	4	-	-	Asie (Japon race 1) et Afrique	Dominant	(Ji et al. 2020)
<i>Xa46(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Chen et al. 2020)

Tableau 4. Gènes de résistance à *Xoo* (*R* et *E*) connus à ce jour.

Tableau adapté de (Chukwu et al. 2019).

Projet de thèse

Les plantes cultivées sont constamment confrontées à de multiples stress biotiques et abiotiques, représentant 17,2 à 30 % des pertes de rendement. Le riz (*Oryza sativa* L.) est l'une des cultures les plus répandues dans le monde et un aliment de base pour la plupart des populations des pays en développement (Ainsworth 2008). *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* représente depuis plusieurs décennies une menace majeure pour sa production en Asie et en Afrique (Liu et al. 2014). Comprendre les éléments qui déterminent l'interaction entre un pathogène et sa plante hôte est d'une importance cruciale pour le développement de stratégies de résistance durable.

L'élucidation du code régissant l'interaction TALE-ADN (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) a permis de grandes avancées dans notre compréhension des mécanismes de résistance et de sensibilité. La possibilité de prédire les cibles des TALE et leur capacité à induire des gènes cibles en font un atout majeur pour la recherche de sources de résistance (e.g. édition du promoteur de gènes *S*, identification de gènes *E*, etc) et l'amélioration des variétés. Les souches Africaines de *Xoo* diffèrent des souches Asiatiques, entre autres, par la taille de leur TALome et l'induction de résistances qui leur sont spécifiques. A ce jour, quatre gènes de résistance de type exécuteur (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*) induits par des TALE de *Xoo* ont été identifiés chez le riz, mais seules les souches Asiatiques de *Xoo* les induisent. Depuis quelques années des études concernant la caractérisation des sources de résistances chez le riz induites par les TALE de souches Africaines de *Xoo* ont été menés au sein de l'équipe que j'ai intégrée (Thèse M. HUTIN, 2015 ; équipe XPLAIN, UMR PHIM, IRD). Mes travaux de thèses se sont inscrits dans la continuité de ce projet, en poursuivant la caractérisation des quatre TALE d'avirulence candidats, TalF, TalI et, TalH et TalD, identifiés pour induire de la résistance sur les accessions de riz d'*O. sativa* suivantes : FKR47N, CT13432 et IR64, respectivement.

Caractérisation de nouvelles sources de résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

1. Criblage d'une banque de mutants Δtal : confirmation de l'activité d'avirulence d'effecteurs TAL candidats

Le premier chapitre de cette thèse a été dévoué à la caractérisation des effecteurs TAL africains candidats ayant une activité d'avirulence, dans le but de confirmer les résultats précédemment obtenus. Pour disséquer le rôle de chaque TALE, une stratégie de perte-de-fonction consistant à inactiver les gènes *tal* a été mise en place. Les mutants d'intérêt ont ensuite été inoculés sur les

variétés de riz correspondantes pour confirmer le rôle du ou des *tal* dans l'activité d'avirulence des souches Africaines de *Xoo*.

2. Approche de cartographie : identification de QTL de résistance aux souches Africaines chez IR64

Le deuxième chapitre porte sur la caractérisation de la résistance conférée par la variété IR64 contre les souches Africaines de *Xoo*. Pour cela, une approche de cartographie portant sur une population de lignées recombinantes (RIL) composée de 210 lignées de génération F₁₁ (provenant du croisement interspécifique entre IR64 et Azucena) a été utilisée, dans le but d'identifier les QTL de résistance mis en évidence par les souches Africaines de *Xoo*. Par la suite une deuxième population de lignées de génération F_{2:3} a été criblée pour rétrécir les zones QTL identifiées.

3. Identification de gènes exécuteurs candidats via une approche de RNA-seq

Suite aux résultats obtenus, une troisième stratégie, visant à étudier la réponse transcriptomique de la plante lors de l'infection par les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, a été menée sur les variétés de riz IR64 et Nipponbare (dont les génomes sont séquencés et annotés), respectivement résistante et sensible aux souches Africaines de *Xoo*. Au cours des chapitres précédents, l'activité d'avirulence de TalD chez IR64 ayant été démontrée, une comparaison de l'expression différentielle des gènes induits par MAI1 et BAI3 avec le mutant BAI3 Δ *talD* a été effectuée, permettant d'identifier de potentiels gènes *E* candidats expliquant la résistance TalD-dépendante de IR64.

Chapitre 1 : Identification d'effecteurs TAL ayant une activité d'avirulence dans les souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Contexte

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*) est l'agent causal bactériose vasculaire, une maladie dévastatrice du riz. Parmi les effecteurs de type 3 sécrétés par *Xoo* au sein de la cellule végétale, la famille des effecteurs "Transcription Activator-Like" (TALE) joue un rôle essentiel. Certains TALE sont des facteurs de virulence majeurs qui activent les gènes de sensibilité (*S*), dont la surexpression contribue au développement de la maladie. Dans certains cas l'incompatibilité avec l'hôte peut résulter de l'expression de gènes dits exécuteurs (*E*) induits par les TALE, entraînant une réponse de résistance forte et rapide qui bloque le développement de la maladie. Dans ce contexte, le TALE fonctionne comme un facteur d'avirulence (*Avr*). A ce jour, aucun facteur d'avirulence n'a été identifié dans les souches Africaines de *Xoo*. En regard de l'importance des effecteurs TAL dans le pathosystème Riz-*Xoo*, nous avons cherché à identifier ceux qui pourraient agir comme facteur d'avirulence chez des souches de *Xoo* Africaines.

Matériels & Méthodes

Une collection de 86 accessions de riz a été criblée dans le but d'identifier celles spécifiquement résistantes aux souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, et sensible à la souche Asiatique PXO99^A.

Par la suite, une approche de gain de fonction basée sur l'introduction de chacun des neuf gènes *tal* de la souche Africaine avirulente MAI1 dans la souche Asiatique virulente PXO99^A a été entreprise pour identifier des TALE avec une fonction d'avirulence. Une analyse mutationnelle de perte de fonction a ensuite été utilisée pour confirmer les TALE identifiés avec la précédente approche.

Résultats & Conclusions

Parmi les 86 accessions criblées, 12 ont été identifiées comme résistantes aux deux souches Africaines tout en étant sensibles à la souche Asiatique. Grâce aux approches de gain et perte de fonction, quatre TALE candidats ont été identifiés, et l'activité d'avirulence de deux d'entre eux, TalD et TalI, a été démontrée sur les variétés de riz IR64 et CT13432 respectivement. L'analyse des mécanismes qui sous-tendent la résistance de la variété de riz CT13432 a révélé l'existence de deux sources de résistance qui se chevauchent, notamment un allèle apparent du gène de résistance à large spectre *Xa1* et un gène *E* putatif non identifié qui est activé par TalI. En plus de CT13432, parmi les 12 accessions de riz qui étaient résistantes contre les souches de *Xoo* Africaines, 8 ont aussi montré un phénotype de résistance de type *Xa1*.

Perspectives

La combinaison d'analyses de transcriptome et des outils de prédiction de cibles dans le génome de CT13432 pourrait permettre la découverte future de ce gène. Cette approche serait également utile pour déchiffrer quels gènes chez IR64 confèrent une résistance contre les souches Africaines de *Xoo* comportant TalD.

Implication personnelle

Le criblage des 86 accessions avec les souches Africaines et Asiatique de *Xoo*, ainsi que l'approche de gain de fonction ont été réalisés par Mathilde Hutin au cours de sa thèse (2012-2015). Une partie de la collection des souches mutantes BAI3 Δ tal a été criblé par Mathilde H. lors de son post-doctorat, et une autre partie par moi-même au cours de cette thèse. Émilie Thomas a participé à la croissance et à la propagation du matériel végétal. J'ai effectué le reste des expériences.

1 **TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae***

2 Marlène Lachaux¹, Emilie Thomas¹, Adam J. Bogdanove², Boris Szurek^{1*} and Mathilde Hutin^{1*}

3 *Correspondence: boris.szurek@ird.fr; mathilde.hutin@ird.fr

4 ¹Plant Health Institute of Montpellier, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAe, Institut Agro, ,
5 Montpellier, France

6 ²Plant Pathology and Plant Microbe Biology Section, School of Integrative Plant Science, Cornell
7 University, Ithaca, NY, 14853 United States of America

8 **Abstract**

9 **Background:** *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) causes bacterial leaf blight, a devastating
10 disease of rice. Among the type-3 effectors secreted by *Xoo* to support pathogen virulence, the
11 Transcription Activator-Like Effector (TALE) family plays a critical role. Some TALEs are major
12 virulence factors that activate susceptibility (*S*) genes, overexpression of which contributes to
13 disease development. Host incompatibility can result from TALE-induced expression of so-called
14 executor (*E*) genes leading to a strong and rapid resistance response that blocks disease
15 development. In that context, the TALE functions as an avirulence (*Avr*) factor. To date no such
16 avirulence factors have been identified in African strains of *Xoo*.

17 **Results:** With respect to the importance of TALEs in the Rice-*Xoo* pathosystem, we aimed at
18 identifying those that may act as *Avr* factor within African *Xoo*. We screened 86 rice accessions, and
19 identified 12 that were resistant to two African strains while being susceptible to a well-studied
20 Asian strain. In a gain of function approach based on the introduction of each of the nine *tal* genes
21 of the avirulent African strain MAI1 into the virulent Asian strain PXO99^A, four were found to

22 trigger resistance on specific rice accessions. Loss-of-function mutational analysis further
23 demonstrated the *avr* activity of two of them, *talD* and *talI*, on the rice varieties IR64 and CT13432
24 respectively. Further analysis of TalI demonstrated the requirement of its activation domain for
25 triggering resistance in CT13432. Resistance in 9 of the 12 rice accessions that were resistant
26 against African *Xoo* specifically, including CT13432, could be suppressed or largely suppressed by
27 trans-expression of the truncTALE *tal2h*, similarly to resistance conferred by the *Xa1* gene which
28 recognizes TALEs generally independently of their activation domain.

29 **Conclusion:** We identified and characterized TalD and TalI as two African *Xoo* TALEs with
30 avirulence activity on IR64 and CT13432 respectively. Resistance of CT13432 against African *Xoo*
31 results from the combination of two mechanisms, one relying on the TalI-mediated induction of an
32 unknown executor gene and the other on an *Xa1*-like gene or allele.

33 **Keywords:**

34 Rice, bacterial leaf blight, truncTALE/iTALE, germplasm, executor gene, *Xa1*-like resistance

35 **Introduction**

36 Cultivated plants constantly face multiple abiotic and biotic stresses, the latter of which are
37 estimated to cause from 17 to 30% of global yield losses on five of the most important crops
38 including rice (Savary et al. 2019). Rice (*Oryza sativa L.*) is one of the most widely cultivated crops
39 around the world and a staple food for much of the developing world (Ainsworth 2008). A major
40 threat to rice production in Asia and Africa is bacterial leaf blight (BLB) caused by the bacterial
41 phytopathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*). BLB may indeed cause up to 50% of yield
42 loss depending on rice variety, growth stage of infection, geographic location and environmental
43 conditions (Liu et al. 2014). *Xoo* enters leaves through hydathodes or wounds. Bacteria then
44 multiply in the intercellular spaces of the underlying epitheme prior to reaching the xylem vessels
45 and propagating into the plant. BLB symptoms are water-soaked lesions that spread following the
46 bacteria's progression down the leaf and become chlorotic and then necrotic (Niño-Liu et al. 2006).

47 As do many pathogenic gram-negative bacteria, *Xoo* uses a type-3 secretion system (T3SS) to
48 secrete into the host cytoplasm a cocktail of type-3 effectors (T3E) that can be classified as
49 transcription activator-like (TAL) effectors and non-TAL effectors. While the latter include a
50 diverse array of effector families with various molecular activities, members of the TAL effector
51 (TALE) family function as eukaryotic transcription factors that bind in a sequence-specific manner
52 to the promoters of target genes in the host cells. Repeat-variable diresidues (RVDs) located at
53 positions 12th and 13th of each of several contiguous repeats in a central domain of TALEs
54 determine the DNA sequence binding specificity of the protein, one repeat to one nucleotide (Boch
55 et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). The target sequence, unique to each TALE, is called the
56 effector binding element (EBE). Some *Xoo* TALEs are major virulence factors, targeting
57 susceptibility (*S*) genes. Upregulation of *S* genes by TALEs contributes to disease development. *S*
58 genes characterized to date for BLB mainly encode clade-3 *SWEET* sugar uniporters that may
59 increase the abundance of apoplastic sugar to the benefit of the pathogen, or transcription factors

60 that regulate so far unknown secondary targets promoting host susceptibility (Garcia-Ruiz et al.
61 2021).

62 Forty-six genes, several dominant and some recessive, individually govern rice resistance against
63 *Xoo*. Twelve have been cloned and nine are TALE-dependent, reflecting the crucial role of TALEs
64 in the interaction (Jiang et al. 2020). Recessive resistance often involves mutations within the EBE
65 of an *S* gene to prevent the TALE-DNA interaction and consequent *S* gene induction. This is well
66 illustrated by the non-TALE-inducible *xa13*, *xa25* and *xa41* loss-of-susceptibility alleles of the
67 major *S* genes *OsSWEET11*, *OsSWEET13*, and *OsSWEET14*, respectively (Chu et al. 2006; Liu et
68 al. 2011; Hutin et al. 2015). Dominant resistance is often triggered by TALE-mediated induction of
69 so-called executor (*E*) genes, expression of which leads to rapid plant cell death that blocks disease
70 development (Boch et al. 2014). Four *E* genes, namely *Xa7*, *Xa10*, *Xa23*, *Xa27*, and their respective
71 matching *tal* genes, *avrXa7*, *avrXa10*, *avrXa23*, *avrXa27*, have been cloned and characterized
72 (Hopkins et al. 1992; Gu et al. 2005; Tian et al. 2014; Wang et al. 2014, 2015; Chen et al. 2021;
73 Luo et al. 2021). These *tal* genes are only present in Asian strains of *Xoo* and no *E* genes induced by
74 African *Xoo* TALEs have been identified to date. *E* genes so far code for small proteins with
75 transmembrane domains, and the molecular mechanisms underlying their function are still far from
76 being understood (Zhang et al. 2015; Chen et al. 2021). Another type of dominant resistance is
77 conferred by receptor-like kinases (RLK), such as *Xa3/Xa26* (Sun et al. 2004; Xiang et al.
78 2006) and *Xa21* (Song et al. 1995), but also *Xa4* which encodes a cell wall-associated kinase (Hu et
79 al. 2017). Finally, the last category are genes encoding nucleotide-binding domain leucine-rich
80 repeat containing receptors (NLR) such as *Xa1* and its apparent alleles *Xo1*, *Xa2*, *Xa14*, *Xa31(t)* and
81 *Xa45(t)* (Ji et al. 2020; Read et al. 2020; Zhang et al. 2020). We consider the latter genes “apparent”
82 alleles because *Xo1* resides in a cluster of NLR genes, the number of which varies among rice
83 genotypes, making orthology uncertain. *Xa1* and *Xo1* were shown to mediate resistance in response
84 to TALEs generally, independently of their specific RVD sequence, and with no requirement for the

85 transcriptional activation domain (Ji et al. 2016; Triplett et al. 2016; Read et al. 2020). A variant
86 class of TALEs called interfering (iTALE) or truncated (truncTALE) TALEs suppress *Xa1/Xo1*-
87 mediated resistance, and the truncTALE Tal2h has been demonstrated to interact with Xo1 (Ji et al.
88 2016; Read et al. 2016, 2020). Whether this interaction is direct, and whether Xo1 interacts with
89 TALEs to mediate resistance remains to be elucidated. Analysis of functional apparent alleles of
90 *Xa1* and *Xo1* highlight the absence of an intervening motif present in non-functional alleles, and
91 differences in the number (4 to 7) of central tandem repeats that might explain differences in their
92 activity (Zhang et al. 2020). Interestingly, most Asian strains of *Xoo* harbor iTALEs/truncTALEs
93 while African strains do not, explaining why African strains are widely controlled by *Xa1*, *Xo1* or
94 functional homologs (Ji et al. 2016; Read et al. 2016, 2020).

95 Previous studies demonstrated that African *Xoo* are genetically distant from Asian *Xoo* and closer to
96 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) (Poulin et al. 2015), which causes bacterial leaf streak
97 (BLS). A characteristic feature of African *Xoo* is their small TALome (set of *tal* genes) consisting
98 of 8-9 genes, relative to Asian *Xoo* which carry up to 19 *tal* genes. Moreover, no TALE is
99 conserved between Asian and African strains (Lang et al. 2019). Comparative analysis of the
100 TALome of several African strains revealed six groups of polymorphic TALEs based on their RVD
101 sequences, including TalA, TalB, TalD, TalF, TalH, and TalI (Doucouré et al. 2018; Tran et al.
102 2018). African *Xoo* are also distinguished by a reduced number of races as compared to Asian *Xoo*
103 (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020). Race profiling on near isogenic lines (NILs) reported the
104 potential of *Xa4*, *xa5* and *Xa7* or co-segregating genes to control a few African *Xoo* from Burkina
105 Faso, Niger, and Cameroon (Gonzalez et al. 2007), but the resistance spectrum of these genes has
106 yet to be evaluated on a larger set of strains. Furthermore, *Xa1* comes up as one of the most
107 promising *R* genes in terms of resistance spectrum for the Malian *Xoo* population (Tekete et al.
108 2020). Other studies to identify resistance against African *Xoo* evaluated 107 accessions of *O.*
109 *glaberrima*, the cultivated rice species domesticated in Africa, as well as improved varieties

110 including NERICA (NEw RICE for Africa) (Djedatin et al. 2011; Wonni et al. 2016). NERICA
111 varieties are often the result of the inter-specific crosses between *O. glaberrima*, which represents
112 important germplasm for resistance to local biotic and abiotic stresses, and high-yielding Asian *O.*
113 *sativa*. These studies identified 25 accessions of *O. glaberrima* that are resistant to one or more
114 African strains of *Xoo*, and five Burkinabe elite rice varieties (Djedatin et al. 2011; Wonni et al.
115 2016). Genes or quantitative trait loci accounting for resistance in these varieties remain to be
116 explored.

117 In this study, toward providing breeders with new resistance genes against African *Xoo*, we
118 screened 86 rice accessions including 16 accessions tested previously (Djedatin et al. 2011; Wonni
119 et al. 2016) for resistance to two reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively
120 originating from Mali and Burkina Faso. We included the Asian strain PXO99^A for comparison. For
121 select accessions, we probed with individual TALEs from the African strains expressed in PXO99^A
122 to identify potential *E* or other TALE-dependent resistance genes. We report on the identification of
123 12 accessions showing resistance to both African strains, nine of which involving an *Xa1*-like
124 immunity, and unveil two TALEs with avirulence activity in African *Xoo*. Interestingly, our
125 approach unmasked the occurrence of two overlapping TALE-mediated sources of resistance in the
126 rice variety CT13432, one involving *Xa1*-like activity and the other a so far unknown TALE-
127 dependent *E* gene.

Name	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99 ^A °	*Candidate avirulence TALEs
Og_107	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S	-
Og_162	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S	-
WAB56-50	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
WAB181-18	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
FKR19	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
FKR43	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
IR64	<i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>	R	MR	S	TalD, TalH
CT13432	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	TalI
Gigante	<i>O. sativa</i>	R	R	S	-
FKR45N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	-
FKR47N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	TalF
FKR49N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	-

Table 1. Four African TALEs mediate resistance when expressed in PXO99^A on resistant varieties.

°Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after inoculation.

Resistant (R), $x < 5$ cm; moderately resistant (MR), $5 \text{ cm} < x < 10$ cm; moderately susceptible (MS), $10 \text{ cm} < x < 15$ cm; susceptible (S), $x > 15$ cm.

*Rice accessions were inoculated with PXO99^A carrying each of the nine *tal* genes of MAI1. (-) means no candidate avirulence TALE identified.

128 **Results**

129 **Germplasm screening for TALE-dependent resistance against African *Xoo* uncovers three** 130 **resistant rice varieties**

131 To search for African *Xoo* *tales* with *avr* activity, we established a gain-of-function approach
132 consisting in the trans-expression of these *tal* genes in a virulent recipient strain of *Xoo*. We first
133 screened a germplasm of 86 accessions of rice and selected those that were susceptible to the Asian
134 *Xoo* strain PXO99^A and resistant to the reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3. Twelve
135 accessions exhibited that phenotype, including two *O. glaberrima*, seven *O. sativa* (two *indica* and
136 one *japonica*), and three elite varieties that are popular in West-Africa (Table S1). To investigate
137 whether the resistance of these 12 accessions to African *Xoo* is triggered by TALEs, each of the
138 nine *tal* genes of the *Xoo* strain MAI1 was introduced into the virulent strain PXO99^A. The
139 expression in PXO99^A of each TALE was confirmed by Western blot (Fig. S1). Each PXO99^A
140 transformant carrying an *Xoo* MAI1 *tal* gene was inoculated to the 12 accessions and to the rice
141 variety Azucena, which was used as susceptible check. No significant difference in lesion lengths
142 was observed upon leaf-clip inoculation of Azucena leaves with the different transformants 15 days
143 after inoculation. In contrast, the varieties CT13432 and FKR47N exhibited resistance when
144 inoculated with PXO99^A transformants carrying *talI* and *talF*, respectively. In addition, PXO99^A
145 strains with *talD* or *talH* both elicited resistance when inoculated to the *O. sativa* ssp. *indica* variety
146 IR64. Overall, four TALEs with avirulence activity and three rice accessions with TAL-dependent
147 resistance were pinpointed through this gain-of-function strategy (Table 1).

148 ***tal* genes mutagenesis confirms *talD* avirulence activity in IR64**

149 To confirm that *talD*, *talH*, *talI* and *talF* act as avirulence genes in strain MAI1, we attempted to
150 generate a library of MAI1 *tal* gene mutants by transformation of the suicide plasmid pSM7 as
151 reported previously (Cernadas et al. 2014; Tran et al. 2018). Because MAI1 turned out to be poorly
152 amenable to genetic transformation, we focused on the *Xoo* strain BAI3, which has a similar

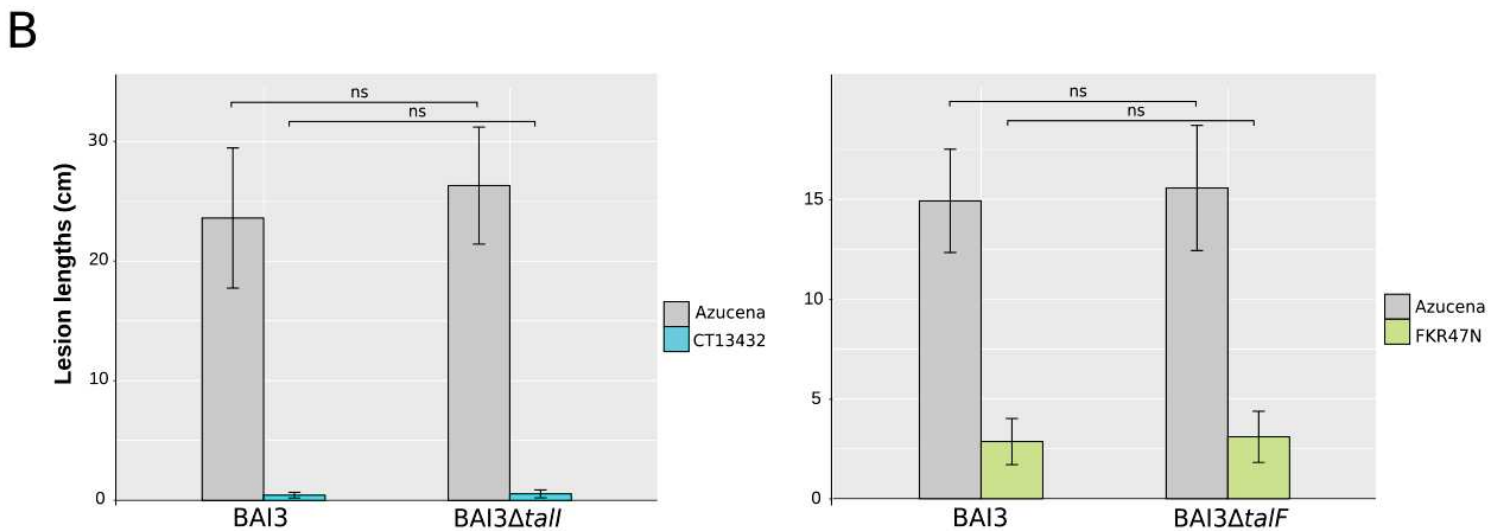
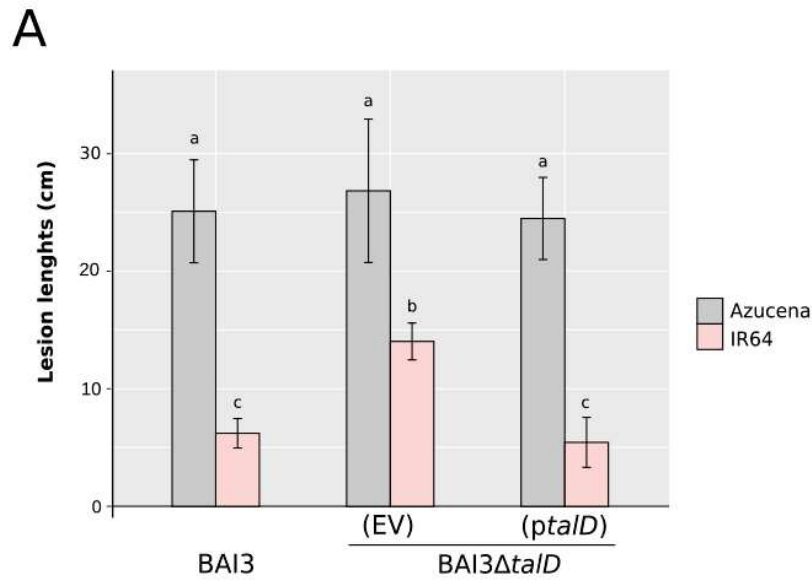


Figure 1. *BAI3ΔtalD* loses avirulence on IR64 but *BAI3ΔtalI* and *BAI3ΔtalF* do not on CT13432 and FKR47N.

(A) Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and *BAI3ΔtalD* carrying an empty vector (EV) or a plasmid with *talD* (*ptaID*). To assess significance, the parametric test ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different. (B) Leaves of rice varieties CT13432, and FKR47N were clip-inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 and with mutant strains *BAI3ΔtalI* and *BAI3ΔtalF*, respectively. Azucena was included for all strains as a susceptible check. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm SD. Significant differences ($p < 0.001$) were determined using an unpaired two-sample t-test; bars with « ns » are not statistically different. Experiments were repeated three times with similar results.

153 TALome (Tran et al. 2018). We obtained at least one mutant strain with a single insertion for each
154 *tal* gene, except for *talH* (Fig. S2). Alongside wild-type (WT) BAI3, mutant strains BAI3 Δ *talI*,
155 BAI3 Δ *talF* and BAI3 Δ *talD* were inoculated to CT13432, FKR47N and IR64, respectively, and to
156 the Azucena susceptible control. Both leaf-clip inoculation and leaf-infiltration of the three
157 BAI3 Δ *tal* mutants produced WT-like symptoms on Azucena, indicating that virulence of these
158 mutant strains was not affected (Fig. 1; Fig. S3). In contrast, an increase of lesion lengths was
159 observed upon clip-inoculation of leaves of IR64 with BAI3 Δ *talD*. Avirulence was fully restored
160 when a plasmid-borne copy of *talD* was introduced into BAI3 Δ *talD* (Fig. 1A), demonstrating the
161 avirulence activity of *talD* in IR64. In contrast, no loss of resistance was observed upon leaf-
162 infiltration or leaf-clipping of CT13432 and FKR47N with *talI* or *talF* mutant strains, respectively
163 (Fig. S3, Fig. 1B), leading to the hypothesis that one or more other *avr* activities, corresponding to
164 one or more other *R* genes, may be masking those of *talI* and *talF*.

165 **CT13432 and FKR47N exhibit *Xa1*-like resistance**

166 When leaves of CT13432 and FKR47N were infiltrated with BAI3, an early and strong
167 hypersensitive response (HR) apparent as rapidly developing necrosis could be observed at the site
168 of inoculation (Fig. S3). *Xa1/Xo1* being able to confer resistance against African strains of *Xoo* and
169 *Xoc* specifically (Ji et al. 2016; Triplett et al. 2016), and among the *Xa* genes that trigger an early
170 and strong HR-like phenotype upon *Xoo* leaf-infiltration, we hypothesized that some *Xa1/Xo1*-like
171 mechanism may be at play in the BAI3-CT13432/FKR47N interactions, redundant to the *talI* and
172 *talF*-specific resistances observed in the gain-of-function experiments. To test this hypothesis we
173 infiltrated the Asian *Xoc* strain BLS256 which carries the truncTALE *tal2h*, and the derivative
174 mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, into leaves of CT13432, FKR47N and the susceptible control
175 Azucena (Fig. 2). As expected, all strains promoted water-soaking symptoms upon infiltration of
176 the susceptible variety Azucena. Typical BLS symptoms were observed when leaves of CT13432
177 and FKR47N were infiltrated with *Xoc* strain BLS256, while a strong resistance phenotype

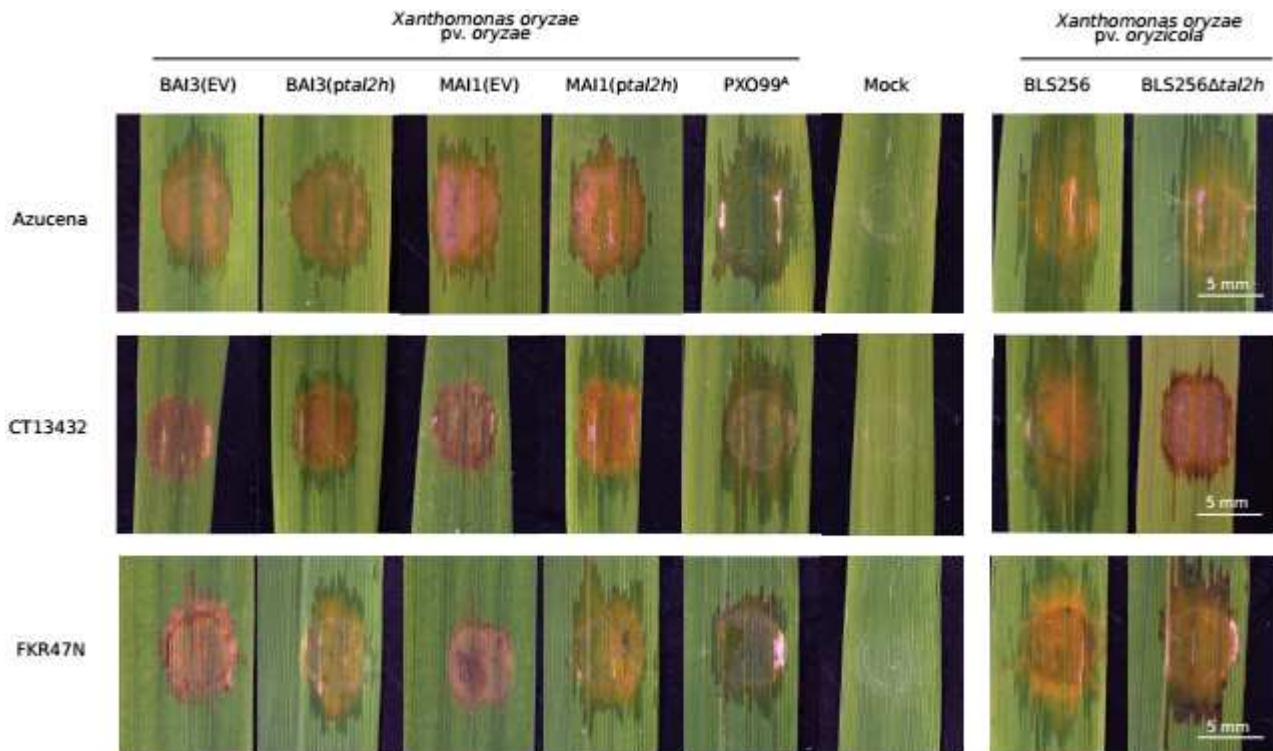


Figure 2. The resistance of CT13432 and FKR47N against African *Xoo* is largely suppressed by a truncTALE.

Leaves of CT13432 and FKR47N rice varieties were inoculated with *Xoo* strains BAI3 and MAI1 carrying an empty vector (EV) or the truncTALE *tal2h* as well as *Xanthomonas oryzae* *pv. oryzicola* (*Xoc*) strain BLS256 which is naturally carrying *tal2h* and the mutant strain BLS256 Δ *tal2h*. The susceptible rice variety Azucena and the Asian *Xoo* strain PXO99^A were used as controls. Leaves were photographed at 5 dpi.

178 appeared upon infiltration of the truncTALE derivative mutant BLS256 Δ *tal2h*, indicating that
179 CT13432 and FKR47N have *Xa1/Xo1*-like activity. To further confirm that the resistance of these
180 varieties against *Xoo* strains BAI3 and MAI1 is conferred in part by an *Xa1*-like gene, both strains
181 were transformed with *tal2h* and pathogenicity assays were performed. As expected, expression of
182 the truncTALE in BAI3 and MAI1 resulted in a complete loss of HR on CT13432 and FKR47N,
183 which was not the case when the strains carried an empty vector (Fig. 2). Altogether, our results
184 suggest that African *Xoo* resistance in CT13432 and FKR47N is mediated by *Xa1* or other alleles,
185 in addition to as yet unidentified resistance genes corresponding to *talI* and *talF*.

186 To test whether any of the ten remaining resistant accessions involve similar mechanisms, 3-week-
187 old plants were inoculated by infiltration and checked for appearance of the HR. As expected,
188 Carolina Gold Select and IRBB1, carrying respectively *Xo1* and *Xa1*, displayed water-soaking
189 lesions when infiltrated with the Asian *Xoc* strain BLS256, and HR when infiltrated with the
190 African *Xoo* strain BAI3 and the truncTALE derivative mutant BLS256 Δ *tal2h* (Fig. S4).
191 Surprisingly, seven out of the eight *O. sativa* spp. accessions also exhibited a typical *Xa1*-like HR to
192 BAI3 and BLS256 Δ *tal2h* while being susceptible to BLS256 (and to PXO99^A, which also carries
193 iTALEs). The two *O. glaberrima* accessions exhibited no *Xa1*-like resistance, developing water-
194 soaking in response to BAI3 or BLS256 Δ *tal2h* following leaf infiltration (Fig. S4, Table S2).
195 Overall, these observations show that 9 of the 12 resistant varieties including CT13432 and
196 FKR47N resist African *Xoo* through *Xa1/Xo1*-like mechanisms.

197 **Presence of *Xa1* allelic *R* genes in CT13432 and FKR47N rice varieties**

198 To test the prediction that an *Xa1* allele was present in CT13432 and FKR47N, we PCR-amplified a
199 202 bp fragment spanning the junction of the first repeat and its up-stream region (Ji et al. 2020);
200 Table S3), allowing the discrimination of resistant and susceptible alleles (susceptible alleles yield
201 no product). Analysis was performed also on the *Xa1*-carrying near-isogenic line IRBB1 and the

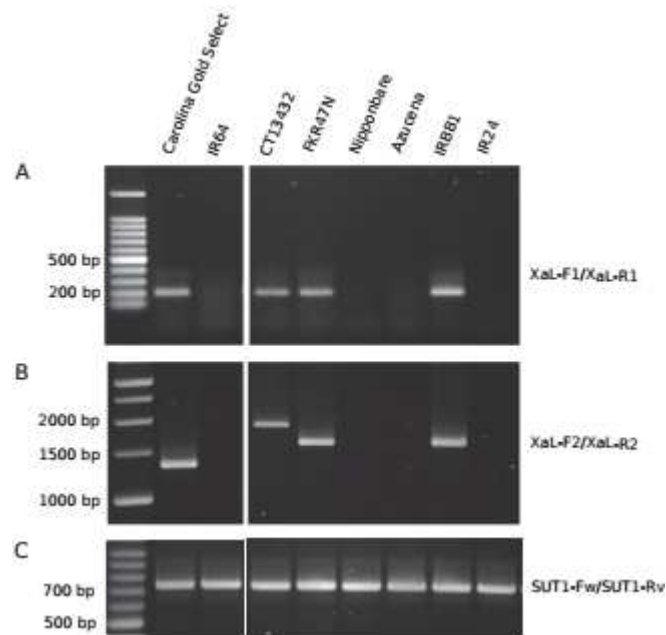


Figure 3. The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of *Xa1*.

The genomic DNA of rice varieties Carolina Gold Select, IR64, CT13432, FKR47N, Nipponbare, Azucena, IRBB1 and IR24 were used as a template for PCR amplification of (A) the junction of the first repeat of 279 base pairs of *Xa1* and its upstream region, (B) the whole repeat region of *Xa1* and alleles, and (C) the housekeeping gene *OsSUT1* used as a control. All the samples were run on the same gel.

202 *Xo1*-carrying Carolina Gold Select rice variety as positive controls, and on Azucena, Nipponbare,
203 IR24 and IR64 as negative controls (Fig. S4). Both CT13432 and FKR47N yielded a product that
204 co-migrated with those of the positive controls (Fig. 3A). No amplification was evident from the
205 negative control varieties. We next tried to determine the number of leucine-rich repeats (LRRs)
206 encoded by the CT13432 and FKR47N alleles by amplifying the LRR domain. As expected, IRBB1
207 and Carolina Gold yielded products of sizes consistent with the six and five LRRs of *Xa1* and *Xo1*,
208 respectively. CT13432 and FKR47N produced amplicons of sizes consistent with the presence of
209 seven and six LRRs, respectively (Fig. 3B). Altogether, these results provide strong evidence that
210 CT13432 and FKR47N varieties each carry a different allele of the *Xa1* *R* gene that is active against
211 African *Xoo* strains MAI1 and BAI3.

212 **Suppression of the *Xa1*-like resistance in CT13432 unmasks an underlying *TalI* activation** 213 **domain-dependent resistance**

214 We hypothesized that the *Xa1*-like resistance in CT13432 and FKR47N explains the failure of the
215 *talI* and *talF* knockouts in BAI3 to abolish avirulence of the mutants, respectively, on these
216 varieties (Fig. 1A). To test this hypothesis directly, we first introduced a plasmid-borne copy of
217 *tal2h* into BAI3 and inoculated to CT13432 and the susceptible variety Azucena. The presence of
218 *tal2h* indeed suppressed the *Xa1*-like resistance to BAI3 in CT13432, resulting in moderate disease
219 symptoms development (Fig. 4A), and higher bacterial titers *in planta* (Fig. 4B) as compared with a
220 BAI3 empty vector control. We next tested whether the combination of *tal2h*-mediated *Xa1*-like
221 suppression and *talI* inactivation would lead to even higher virulence on CT13432 by introducing
222 *tal2h* (or the empty vector) into BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*). No significant differences in lesion lengths or
223 bacterial populations were observed between BAI3(*ptal2h*) and BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*)(EV). However,
224 expression of *talI*_{BAI3} in trans in BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*) dramatically reduced lesion lengths and bacterial
225 titer *in planta*, relative to the empty vector in BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*). These results demonstrate that
226 *talI*_{BAI3} *avr* activity in CT13432 can be detected when *Xa1* is inactivated. We next evaluated if

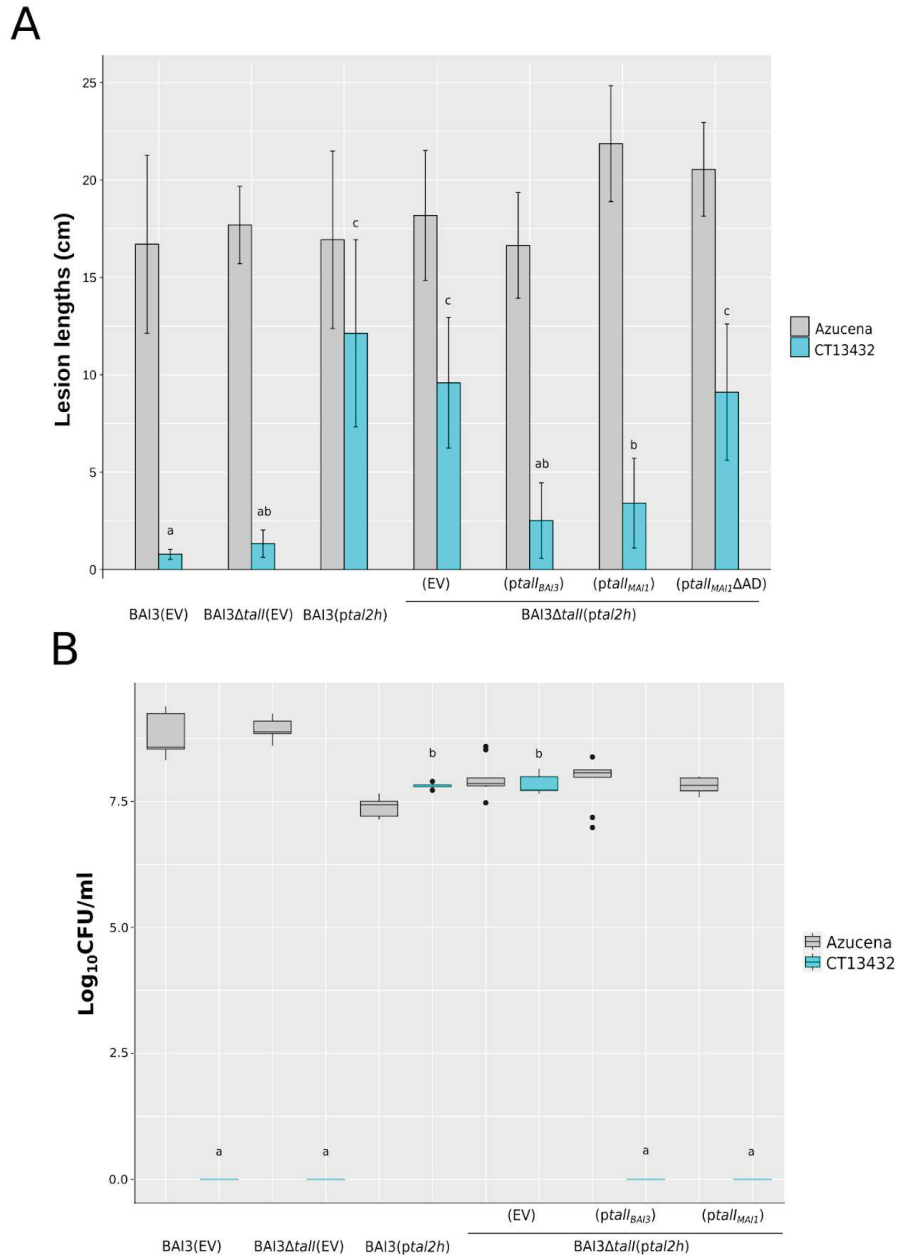


Figure 4. Suppression of Xa1-like resistance unmasks *TalI* avirulence activity in the rice variety CT13432. (A) Leaves of CT13432 and Azucena plants were clip-inoculated with the *Xoo* strain BAI3 carrying the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3Δ*talI* mutant carrying the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3 strain expressing the *tal2h* truncTALE, and BAI3Δ*talI* expressing *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3}, *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1}ΔAD. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. (B) Bacterial counts were taken 7 dpi of rice leaves of CT13432 and Azucena inoculated with the same panel of *Xoo* strains used in (A). Statistical tests in both experiments were carried out in R using the nonparametric Kruskal-Wallis and Dunn's tests ($\alpha = 0.05$). Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different.

227 restoration of avirulence could also be obtained upon expression of *tall_{MAI1}* which is polymorphic at
228 RVDs 4 and 9 (Tran et al. 2018). As with *tall_{BAI3}*, expression of *tall_{MAI1}* lead to reduced lesion
229 lengths and *in planta* bacterial amounts, indicating that both *tall* variants confer avirulence on
230 CT13432 (Fig. 4). We next evaluated the requirement of the activation domain (AD) in the *tall*-
231 specific resistance. BAI3 Δ *tall*(*ptal2h*) transformed with the deletion derivative construct
232 *ptall_{MAI1}* Δ AD failed to trigger resistance in CT13432 while it remained fully virulent on the
233 susceptible variety Azucena (Fig. 4A). Western-blot analysis verified that TalI_{MAI1} and TalI_{MAI1} Δ AD
234 accumulate at comparable levels (Fig. S5). Altogether our results show that the TalI specifically
235 elicits a form of resistance distinct from the Xa1-like resistance in CT13432 and that this elicitation
236 relies on the activation domain of TalI, suggesting the presence of a TalI-activated *E* gene. Further
237 analysis will be necessary to elucidate whether the same is true for *talF*-mediated resistance in
238 FKR47N.

239 **Discussion**

240 First identified in Japan in 1884, BLB has been long recognized as a major threat in many Asian
241 countries, and therefore for decades at the heart of many research and resistance breeding programs
242 (Liu et al. 2014). To date, a handful of avirulence genes have been cloned from Asian *Xoo* strains,
243 all of which encode TAL effectors including *avrXa7*, *avrXa10*, *avrXa23*, and *avrXa27* (Hopkins et
244 al. 1992; Gu et al. 2005; Wang et al. 2014). In contrast, no avirulence gene has been identified in
245 African *Xoo* strains, the first of which were isolated in the 1980s. However, as many as nine races
246 of African strains, not found among Asian strains, have been reported so far (Gonzalez et al. 2007;
247 Tekete et al. 2020), indicating that some effector genes of African *Xoo* strains act as avirulence
248 factors in gene-for-gene interactions with some rice *R* genes. Comparison between African and
249 Asian *Xoo* TALomes shows that no *tal* gene is conserved between these two *Xoo* lineages (Lang et
250 al. 2019). Strains of both lineages induce the *S* genes *OsSWEET14* and *OsTFX1* through unrelated
251 TALEs, highlighting cases of inter-lineage evolutionary convergence of virulence functions

252 (Streubel et al. 2013; Tran et al. 2018). In contrast, none of the rice *E* genes induced by Asian *Xoo*
253 is predicted to be targeted by any African *Xoo* TALE. Here, toward identifying sources of resistance
254 effective against African *Xoo* strains, we assessed the putative *avr* activity of 12 previously cloned
255 individual *tal* genes representing the TALome of two African *Xoo* strains (Tran et al. 2018), using a
256 large set of rice accessions.

257 To accomplish this goal, we first took a gain-of-function approach using the virulent Asian *Xoo*
258 strain PXO99^A as a recipient to express cloned African *tal* genes. In a similar approach, we
259 previously identified major virulence TALEs of African *Xoo* strains using the US strain *Xo* X11-5A
260 as recipient (Tran et al. 2018). X11-5A lacks *tal* genes and is weakly virulent, allowing for gain-of-
261 virulence screening (Ryba-White et al. 1995; Triplett et al. 2011). Nonetheless in a search for gain-
262 of-avirulence, the use of a more virulent strain is required. By selecting the Asian strain PXO99^A as
263 recipient, we also minimized the risk of TALE functional redundancy. This strategy led to the
264 identification of *talI* and *talF* respectively causing resistance in rice varieties CT13432 and
265 FKR47N, as well as *talD* and *talH*, each triggering resistance on IR64.

266 In a complementary approach, a loss-of-function analysis was carried out by mutagenizing
267 individual *tal* genes in the African *Xoo* strain BAI3. This analysis validated *talD* and *talI* as
268 avirulence genes; a mutant for *talH* was not obtained. Because IR64 has been sequenced and
269 recombinant populations are available, (Fragoso et al. 2017) prospects for future identification of
270 the gene(s) underlying the TalD-elicited resistance are good. Mutagenesis of *talI* or *talF* failed to
271 cause a measurable loss of avirulence in the respective rice varieties CT13432 and FKR47N.
272 However, *talI* avirulence activity was evident upon trans-expression of the truncTALE *tal2h* in
273 BAI3 Δ *talI*, revealing that a resistance like that mediated by Xa1, in response to TALEs generally
274 and suppressed by truncTALEs, is present in CT13432 and masking the TalI-specific resistance. By
275 further taking advantage of this combined gain- and loss-of-function approach, we also determined

276 that the TalI-specific resistance depends on the activation domain of the effector and thus likely
277 involves an *E* gene.

278 While four TALE groups including TalG, TalE, TalD and TalC are strictly conserved between *Xoo*
279 strains MAI1 and BAI3, two to six RVD variations were reported in the five other groups,
280 modifying to some extent their DNA binding sequence specificities (Tran et al. 2018). Notably,
281 three of the four candidate or validated avirulence TALEs identified in this study, TalI, TalF, and
282 TalH all present RVD polymorphisms across Malian and Burkinabe strains, which could be the
283 result of some ongoing selection pressure imposed by corresponding *E* or other resistance genes
284 (Doucouré et al. 2018; Schandry et al. 2018). Surprisingly, the TalD group is much more conserved,
285 highlighted by an absolute RVD conservation between BAI3, MAI1 and the Cameroonian strain
286 CFBP1947 (Tran et al. 2018), and only one polymorphic RVD among nine Malian strains
287 investigated (Doucouré et al. 2018). According to the EBE prediction tools Target Finder and Talvez
288 (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), 90% of the first 20 predicted targets of the two
289 versions of TalD are conserved. Such a conservation among strains hints to an important role in
290 virulence for TalD, but there are no data supporting this hypothesis so far. Concerning the TalI
291 group, BAI3 and MAI1 alleles differ at two RVDs and share about 32% of their predicted targets,
292 querying the Nipponbare genome. Since both variants equally elicit resistance in the rice variety
293 CT13432, their polymorphism may confer an advantage in future identification of the putative
294 corresponding *E* gene; the gene is likely to reside among the relatively smaller number of predicted
295 targets in that genome that are shared by the two alleles.

296 Up to now 12 *R* genes against BLB have been cloned, of which 9 are triggered by TALEs (Jiang et
297 al. 2020; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). This proportion not only highlights the crucial role of
298 this effector family in the rice-*Xoo* pathosystem but also the relevance of using TALEs as probes to
299 identify resistance sources and clone the underlying genes. This quest is facilitated by the ability to

300 identify candidate targets of TALEs by combining EBE prediction and expression analysis, owing
301 to the modular nature of TALE DNA interactions and their strong transcriptional upregulation of
302 targets (Boch et al. 2014). In a proof-of-concept study pioneering this strategy for *E* gene
303 identification, Strauss et al (2012) identified the pepper *Bs4C* gene, which is specifically induced by
304 the TALE AvrBs4 from *X. euvesicatoria*. More recently, a mix of map-based cloning and EBE
305 predictions led to the isolation of the *E* gene *Xa7* in rice, which is triggered by the *Xoo* TALE
306 AvrXa7 (Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). In our study, out of the 86 accessions phenotyped, 12
307 were found to be resistant to both African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, including 7 accessions of *O.*
308 *sativa*, 2 of *O. glaberrima* and 3 NERICAs. Moreover, 12 *O. glaberrima*, 3 *O. sativa*, 3 *O. barthii*
309 and 2 NERICA accessions were discovered to be resistant specifically to the Malian strain MAI1.

310 Among the 12 accessions identified as resistant to *Xoo* African strains MAI1 and BAI3, 9
311 accessions, including CT13432 and FKR47N, showed a phenotype typical of *Xa1* resistance (Table
312 S2; Fig. S4). This is not surprising since *Xa1* and its functional homologs exhibit broad-spectrum
313 resistance against African *Xoo* specifically, owing to the lack of iTALEs in examined African *Xoo*
314 strains (Ji et al. 2016; Read et al.;2016). The *Xa1* allele that we discovered in the rice variety
315 CT13432 appears to contain seven LRRs, like the allele originally identified as *Xa45(t)*, which was
316 cloned from the wild rice variety *Oryza nivara-1* (Ji et al. 2020). Other alleles reported to date
317 contain 4 (*Xa14*), 5 (*Xa2* and *Xo1*), and 6 repeats (*Xa1*). Variety FKR47N contains an allele that
318 appears to have 6 LRRs. FKR47N, also called NERICA 17, is the result of crossing *O. glaberrima*
319 variety CG14 and *O. sativa* ssp. *japonica* variety WAB181-18, backcrossing to WAB181-18 as
320 recurrent parent. *Xa1* alleles have been reported in other NERICAs. Alleles in NERICAs 5 and 7,
321 the recurrent parent of which is the *O. sativa* ssp. *japonica* rice variety WAB56-104, have five and
322 six LRRs respectively. NERICAs 12 and 14, coming from the *O. sativa* ssp. *japonica* rice variety
323 WAB56-50, each carry an allele with five LRRs (Ji et al. 2020). According to Ji et al. (2020), a
324 search for *Xa1* allelic members in the 3000 rice genomes revealed that approximately 15% contain

325 the *Xa1* signature sequence. A phenotypic screening for *Xa1*-like resistance in 87 rice accessions
326 revealed its in 16, including different rice species such as *O. glaberrima*, *O. nivara* and *O. sativa* (Ji
327 et al. 2020). A complementary study on more than 500 *O. sativa* accessions revealed that *Xa1*
328 alleles were present in *aus*, *indica*, temperate and tropical *japonica* (Zhang et al. 2020). The
329 frequency of *Xa1* alleles among diverse rice varieties and the variability of LRRs number among
330 *Xa1* alleles observed in these studies and revealed further by our results, underscores the
331 unanswered question of the origin of the gene and the drivers of its diversification.

332 BLB represents a serious threat to rice production in Africa. Varietal resistance is the best strategy
333 to control BLB durably, but it requires sources of resistance effective against the local pathogen
334 genotypes. So far, no African strain of *Xoo* with iTALE/truncTALE has been identified, which
335 makes *Xa1* and its alleles promising tools to control BLB in Africa. Although the durability of *Xa1*
336 in Africa is difficult to predict, the risk of emergence of strains of *Xoo* originating from Asia and
337 their spread through the African continent seems high in the current context of intense global
338 exchanges of rice germplasm and insufficient phytosanitary measures. Pyramiding of resistance
339 genes against BLB is of great value to extend the durability and the spectrum of resistance within a
340 rice variety (Oliva et al. 2019). CT13432 combines several rice blast resistance genes (Pi1, Pi2 and
341 Pi33) (Tharreau et al. 2007; Utami et al. 2011), but here we found out that it also carries at least
342 two, distinct types of resistance to BLB, an apparent *Xa1* allele and a putative, Tall-dependent *E*
343 gene, making it an excellent material for breeding to create improved varieties for Africa. What is
344 more, we expect that the CT13432 might also carry yet another blast resistance gene, *Pi63*, which
345 resides at the same locus as *Xo1* in Carolina Gold Select (Read et al. 2020).

346 **Conclusions**

347 In this study, we identified 12 rice accessions exhibiting resistance against African strains of *Xoo*
348 and described 4 TAL effectors from these strains that exhibit avirulence activity. Analysis of the

349 mechanisms underlying the resistance of the rice variety CT13432 revealed the occurrence of two
350 overlapping sources of resistance including an apparent allele of the broad-spectrum resistance gene
351 *Xa1* and an unidentified putative *E* gene that is activated by TalI. Combining transcriptomics and
352 EBE prediction tools in the genome of CT13432 may allow discovery of this gene in the future.
353 This approach would also be useful to decipher what genes in IR64 confer resistance against strains
354 of *Xoo* with TalD.

355 **Material and Methods**

356 **Bacterial Strains and Growth Conditions**

357 Bacterial strains used in this study are listed in Table S4. *Escherichia coli* was cultivated at 37°C in
358 liquid or solid (15 g agar per L) Luria-Bertani (LB) medium (10 g of tryptone, 5 g of yeast extract,
359 and 5 g of NaCl per L of distilled water), and *Xanthomonas oryzae* pathovars at 28°C in liquid or
360 solid (16 g agar per L) peptone sucrose medium (10 g of peptone, 10 g of sucrose, and 1 g of
361 glutamic acid per L of distilled water).

362 **Plant Materials and Plant Inoculations**

363 The rice accessions screened in this study are listed in Table S1. Plants used were grown in a
364 greenhouse under cycles of 12h of light at 28°C with 80% relative humidity (RH) and 12h of dark
365 at 25°C with 70% RH. When used for bacterial quantification assays, plants were grown in a
366 growth chamber at 28°C and 80% RH (day and night). For lesion length assays, leaves of 5-week-
367 old plants were inoculated by leaf-clipping with a bacterial suspension at an optical density at 600
368 nm (OD_{600}) of 0.2. Lesion lengths were measured 15 days post inoculation (dpi) on at least eight
369 leaves from individual plants per experiment. Leaves of 3-week-old plants were infiltrated with a
370 needleless syringe and a bacterial suspension at an OD_{600} of 0.5. Symptoms were photographed at 5
371 dpi. For bacterial quantification assay, 5-week-old plants were inoculated by leaf-clipping and 10

372 cm distal leaf fragments of three leaves from three individual plants per condition were cut in half
373 and ground in liquid nitrogen separately as reported previously (Yu et al. 2011).

374 **Plasmid Transformation**

375 Plasmids were introduced into *E. coli* cells by heat-shock transformation and into *Xoo* by
376 electroporation or triparental mating (Figurski and Helinski 1979). Appropriate antibiotics for
377 selection were added to growth media at the following final concentrations: rifampicin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$
378 $^{-1}$; gentamicin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$; tetracycline, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$; kanamycin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$.

379 *tal* genes of the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 are cloned in pSKX1, which confers
380 gentamicin resistance (Tran et al., 2018; Table S4). The truncTALE *tal2h* is cloned in pKEB31,
381 which confers tetracycline resistance (Read et al. 2016; Table S4). The plasmids are compatible
382 with each other.

383 **Mutant library construction and characterization**

384 The BAI3 Δtal mutants were generated upon electroporation of the wild-type strain BAI3 with the
385 suicide plasmid pSM7 (Cernadas et al. 2014). Mutant strains were selected with kanamycin at 100
386 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. The mutant library was characterized by Southern blot analysis. Extraction of *Xoo*
387 genomic DNA (gDNA) was performed using the Wizard Genomic DNA Purification kit
388 (Promega[®]). Four micrograms of gDNA were digested by *Bam*HI-HF (New England Biolabs) at
389 37°C overnight. The digested DNA was separated in a 1 % agarose gel at 50 Volts for 72 hours at
390 4°C and transferred to a nylon membrane (Roche[®]) overnight. Hybridization was conducted
391 according to the procedures described in the DIG High Prime DNA Labeling and Detection Starter
392 kit II protocol (Roche[®]), using a 725-bp C-terminal *TalC*_{MAI1} amplicon as probe (Yu et al. 2011).

393 **Construction of *talI* activation domain mutant**

394 The *talI*_{MAII}ΔAD construct was made by swapping the central repeat region of a *talF*_{MAII}ΔAD
395 construct with that of *talI*_{MAII}. To create the *talF*_{MAII}ΔAD construct, a PCR product corresponding to
396 a 520 bp fragment encoding the C-terminus of *talF*_{MAII} was obtained with primers ΔAD_Fw and
397 ΔAD_Rv (Table S3), thereby allowing to introduce an inframe 167-nt deletion. This amplicon was
398 introduced into pSKX1_*talF*_{MAII} between the *PvuI* and *HindIII* restriction sites using T4 DNA ligase
399 (Promega®) according to manufacturer's recommendations, creating pSKX1_*talF*_{MAII}ΔAD. The
400 *talI*_{MAII} central repeat region was then swapped into pSKX1_*talF*_{MAII}ΔAD using *StuI* and *AatII*
401 (NEB, New England Biolabs) to generate pSKX1_*talI*_{MAII}ΔAD. The plasmid was confirmed by
402 Sanger sequencing.

403

404 **Expression Analysis by Western Blotting**

405 *Xoo* strains carrying the different combinations of TALE-encoding plasmid, truncTALE (*tal2h*) -
406 encoding plasmid, and empty vectors (pSKX1 or pKEB31) were grown in liquid peptone sucrose
407 medium supplemented with the corresponding antibiotics at 28°C. Cells of 1 ml of a bacterial
408 suspension at an OD₆₀₀ of 0.4 were harvested. Proteins were extracted with the BugBuster® Master
409 Mix (Novagen), according to manufacturer's recommendations. The total protein concentration of
410 each sample was calculated by a Bradford assay following the Bio-Rad Protein Assay protocol
411 (Bio-Rad, USA), and protein concentrations adjusted. TALE and truncTALE expression was
412 analyzed by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis using a 4-15%
413 polyacrylamide gel and immunoblotting using the anti-TALE polyclonal antibody produced by
414 Read et al. (2016) followed by a horseradish peroxidase conjugated rabbit secondary antibody
415 (Sigma-Aldrich). Detection was carried out using the Thermo Scientific™ Pierce™ ECL 2 Western
416 Blotting Substrate kit and a Typhoon™ FLA 9500 (General Electric Healthcare Life Sciences, USA)
417 for imaging.

418 **PCR-amplification of putative functional *Xa1* alleles**

419 To identify rice accessions harboring a potentially functional *Xa1* allele and to decipher the number
420 of 93 aa repetitions, genomic DNA of rice accessions was extracted using an adaptation of the
421 Murray and Thompson protocol (Murray and Thompson 1980) and was subjected to PCR using
422 pairs of primers XaL-F1/XaL-R1 and XaL-F2/XaL-R2, respectively (Table S3; Ji et al. 2020).

423 **Author's Contributions**

424 ML, BS, and MH designed the experiments. ML and MH conducted the experiments. ET
425 participated in plant material growth and propagation. ML, AB, BS, and MH performed data
426 analysis and wrote the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

427 **Funding**

428 This work was supported by the CRP-Rice (CGIAR Research Program) to MH and BS, and the
429 Plant Genome Research Program of the National Science Foundation (Division of Integrative
430 Organismal Systems IOS-1444511 to AJB).

431 **Availability of Data and Materials**

432 The datasets supporting the conclusions of this article are provided within the article and its
433 supplementary information files.

434 **Declarations**

435 **Ethics Approval and Consent to Participate**

436 Not applicable

437 **Consent for Publication**

438 Not applicable

439 **Competing interests**

440 The authors declare that no competing interests exist.

441 **Figure titles and legends**

442 **Fig. S1 Western-blot of PXO99^A *Xoo* transformant total protein extracts using an anti-TALE**
443 **antibody.**

444 Protein extracts prepared from the wild-type *Xoo* strain PXO99^A and the *Xoo* strain PXO99^A
445 carrying, on the vector pSKX1, each of the nine *tal* genes of the Malian strain MAI1 and their
446 variants in the Burkinabe strain BAI3. Reference molecular weights are indicated at right. The
447 expressed MAI1 and BAI3 TALE proteins are each indicated by a red dot. Bands of lower
448 molecular weight not present in the wild-type PXO99^A extract are degradation products of the
449 heterologously expressed TALEs, commonly observed.

450 **Fig. S2. Molecular characterization of a library of BAI3 Δ *tal* mutant strains**

451 Genomic DNA of the wild-type *Xoo* strain BAI3 and derivative BAI3 Δ *tal* mutants were digested by
452 *Bam*HI-HF which cuts on either side of the central repeat region of *tal* genes and revealed by
453 Southern blot using a 725-bp C-terminal *tal*C_{MAI1} amplicon as probe (Yu et al. 2011). Individual
454 mutants were obtained for each *tal* gene with the exception of *talH*. One double *talG/talH* mutant
455 was analyzed instead. BAI3 Δ *talB* was obtained previously, also using the suicide plasmid pSM7
456 (Tran et al., 2018), and is therefore not included here. *tal* genes are indicated to the left and DNA
457 sizes to the right. Red arrows indicate the *tal* gene(s) that were mutated.

458 **Fig. 1 BAI3 Δ *talD* loses avirulence on IR64 but BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF* do not on CT13432**
459 **and FKR47N.**

460 (A) Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and BAI3 Δ *talD* carrying
461 an empty vector (EV) or a plasmid with *talD* (*ptalD*). To assess significance, the parametrical test
462 ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case
463 letter are not significantly different. (B) Leaves of rice varieties CT13432, and FKR47N were clip-
464 inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 and with mutant strains BAI3 Δ *talI* and
465 BAI3 Δ *talF*, respectively. Azucena was included for all strains as a susceptible check. Lesion
466 lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm
467 SD. Significant differences ($p < 0.001$) were determined using an unpaired two-sample t-test, bars
468 with « ns » are not statistically different. Experiments were repeated three time with similar results.

469 **Fig. S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with**
470 **BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF* mutants.**

471 Leaves of rice varieties IR64, CT13432, FKR47N and Azucena were infiltrated with the wild type
472 African *Xoo* strain BAI3 and the mutant derivatives BAI3 Δ *talD*, BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF*.
473 Inoculated leaves were photographed at 5 dpi.

474 **Fig. 2 The resistance of CT13432 and FKR47N against African *Xoo* is largely suppressed by a**
475 **truncTALE.**

476 Leaves of CT13432 and FKR47N rice varieties were inoculated with *Xoo* strains BAI3 and MAI1
477 carrying an empty vector (EV) or the truncTALE *tal2h* as well as *Xanthomonas oryzae* pv.
478 *oryzicola* (*Xoc*) strain BLS256 which is naturally carrying *tal2h* and the mutant strain
479 BLS256 Δ *tal2h*. The susceptible rice variety Azucena and the Asian *Xoo* strain PXO99^A were used
480 as controls. Leaves were photographed at 5 dpi.

481 **Fig. S4. The *tal2h* truncTALE reveals *Xa1*-like resistance against the *Xoo* strain BAI3 in**
482 **several rice varieties.**

483 Leaves of rice accessions, including Carolina Gold Select which carries *Xo1*, and IRBB1 which
484 carries *Xa1*, were infiltrated with *Xoc* strain BLS256 which naturally carries the *tal2h* truncTALE
485 gene, the mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, as well as with *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector
486 (EV) or *tal2h*. The Asian *Xoo* strain PXO99^A which harbors two truncTALEs, was used as an
487 additional positive control. Leaves were photographed at 5 dpi.

488 **Fig. 3 The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of *Xa1*.**

489 The genomic DNA of rice varieties Carolina Gold Select, IR64, CT13432, FKR47N, Nipponbare,
490 Azucena, IRBB1 and IR24 were used as a template for PCR amplification of (A) the junction of the
491 first repeat of 279 base pairs of *Xa1* and its upstream region, (B) the whole repeat region of *Xa1* and
492 alleles, and (C) the housekeeping gene *OsSUT1* used as a control. All the samples were run on the
493 same gel.

494 **Fig. 4 Suppression of *Xa1*-like resistance unmasks *talI* avirulence activity in the rice variety**
495 **CT13432.**

496 (A) Leaves of CT13432 and Azucena plants were clip-inoculated with the *Xoo* strain BAI3 carrying
497 the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3 Δ *talI* mutant carrying the pKEB31 empty vector (EV),
498 the BAI3 strain expressing the *tal2h* truncTALE, and BAI3 Δ *talI* expressing *tal2h* and the pSKX1
499 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3}, *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1} Δ AD. Lesion lengths were
500 measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. (B) Bacterial counts were taken 7
501 days post-inoculation of rice leaves of CT13432 and Azucena inoculated with the same panel of

502 *Xoo* strains used in (A). Statistical tests in both experiments were carried out in R using the
503 nonparametric Kruskal-Wallis and Dunn's tests ($\alpha = 0.05$). Values labeled with the same lower-case
504 letter are not significantly different.

505 **Fig. S5. Western-blot analysis of *Xoo* total protein extracts using an anti-TALE antibody.**
506 Proteins extracts prepared from *Xoo* strain BAI3 carrying the empty vector pKEB31 (EV),
507 BAI3 Δ *talI* carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3 carrying the *tal2h* truncTALE gene, and
508 BAI3 Δ *talI* with *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3} or *talI*_{MAII} or
509 *talI*_{MAII} Δ AD. BAI3 *tal* genes and *tal2h* are indicated to the left and right, respectively. Molecular
510 weight is indicated.

511 **References**

- 512 Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to
513 elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650.
514 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- 515 Boch J, Bonas U, Lahaye T (2014) TAL effectors - pathogen strategies and plant resistance
516 engineering. *New Phytol* 204:823–832. <https://doi.org/10.1111/nph.13015>
- 517 Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of
518 TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512.
519 <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- 520 Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, et al (2014) Code-Assisted Discovery of TAL Effector
521 Targets in Bacterial Leaf Streak of Rice Reveals Contrast with Bacterial Blight and a Novel
522 Susceptibility Gene. *PLoS Pathog* 10:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- 523 Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-
524 spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- 525
- 526 Chu Z, Fu B, Yang H, et al (2006) Targeting xa13, a recessive gene for bacterial blight resistance in
527 rice. *Theor Appl Genet* 112:455–461. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0145-6>
- 528 Djedatin G, Ndjioudjop MN, Mathieu T, et al (2011) Evaluation of African cultivated rice *Oryza*
529 *glaberrima* for resistance to bacterial blight. *Plant Dis* 95:441–447.
530 <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0558>
- 531 Doucouré H, Pérez-Quintero AL, Reshetnyak G, et al (2018) Functional and genome sequence-
532 driven characterization of tal effector gene repertoires reveals novel variants with altered
533 specificities in closely related malian *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains. *Front Microbiol*
534 9:1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01657>

535 Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT)
536 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122.
537 <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>

538 Figurski DH, Helinski DR (1979) Replication of an origin-containing derivative of plasmid RK2
539 dependent on a plasmid function provided in trans. *Proc Natl Acad Sci* 76:1648–1652.
540 <https://doi.org/10.1073/PNAS.76.4.1648>

541 Fragoso CA, Moreno M, Wang Z, et al (2017) Genetic Architecture of a Rice Nested Association
542 Mapping Population. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 7:1913–1926.
543 <https://doi.org/10.1534/G3.117.041608>

544 Garcia-Ruiz H, Szurek B, Van den Ackerveken G (2021) Stop helping pathogens: engineering plant
545 susceptibility genes for durable resistance. *Curr Opin Biotechnol* 70:187–195.
546 <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.05.005>

547 Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new
548 *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546.
549 <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>

550 Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers
551 disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>

552 Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459.
553 <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>

554 Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance
555 gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>

556 Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a
557 broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J*
558 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>

559 Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by
560 Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087.
561 <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>

562 Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-
563 mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>

564 Jiang N, Yan J, Liang Y, et al (2020) Resistance Genes and their Interactions with Bacterial Blight/
565 Leaf Streak Pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in Rice (*Oryza sativa* L.)—an Updated Review.
566 *Rice* 13:. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0358-y>

567 Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting
568 wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front*
569 *Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>

570 Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-
571 specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969.
572 <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>

573 Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and
574 fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto->
575 [102313-045926](https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926)

576 Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice
577 susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant*
578 *Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>

579 Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors.
580 *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>

581 Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic*
582 *Acids Res* 8:4321–4326. <https://doi.org/10.1093/NAR/8.19.4321>

583 Niño-Liu DO, Ronald PC, Bogdanove AJ (2006) *Xanthomonas oryzae* pathovars: Model pathogens
584 of a model crop. *Mol Plant Pathol* 7:303–324. [https://doi.org/10.1111/j.1364-](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x)
585 [3703.2006.00344.x](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x)

586 Oliva R, Ji C, Atienza-Grande G, et al (2019) Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice
587 using genome editing. *Nat Biotechnol* 37:1344–1350. [https://doi.org/10.1038/s41587-019-](https://doi.org/10.1038/s41587-019-0267-z)
588 [0267-z](https://doi.org/10.1038/s41587-019-0267-z)

589 Pérez-Quintero AL, Rodríguez-R LM, Dereeper A, et al (2013) An Improved Method for TAL
590 Effectors DNA-Binding Sites Prediction Reveals Functional Convergence in TAL Repertoires
591 of *Xanthomonas oryzae* Strains. *PLoS One* 8:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>

592 Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat
593 analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf
594 streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698.
595 <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>

596 Read AC, Hutin M, Moscou MJ, et al (2020) Cloning of the rice Xo1 resistance gene and
597 interaction of the Xo1 protein with the defense-suppressing *Xanthomonas* effector Tal2h. *Mol*
598 *Plant-Microbe Interact* 33:1189–1195. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-20-0131-SC>

599 Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020) Genome assembly and characterization of a complex
600 zfBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with
601 Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zfBED-NLR gene-containing Dis*
602 *Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678.
603 <https://doi.org/10.1101/675678>

604 Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (2016) Suppression of Xo1-mediated disease resistance in rice
605 by a truncated, non-DNA-binding TAL effector of *Xanthomonas oryzae*. *Front Plant Sci* 7:1–
606 [14. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516)

607 Ryba-White M, Notteghem JL, Leach J. (1995) Comparison of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*
608 strains from Africa, North America, and Asia by restriction fragment length polymorphism

609 analysis. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=QR9500053>. Accessed 14 Aug
610 2021

611 Savary S, Willocquet L, Pethybridge SJ, et al (2019) The global burden of pathogens and pests on
612 major food crops. *Nat Ecol Evol* 3:430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>

613 Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant
614 breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol*
615 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>

616 Song W-YY, Wang G-LL, Chen L-LL, et al (1995) A receptor kinase-like protein encoded by the
617 rice disease resistance gene, Xa21. *Science* (80-) 270:1804.
618 <https://doi.org/10.1126/science.270.5243.1804>

619 Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, et al (2012) RNA-seq pinpoints a *Xanthomonas* TAL-
620 effector activated resistance gene in a large-crop genome. *Proc Natl Acad Sci U S A*
621 109:19480–19485. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

622 Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer
623 TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol*
624 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>

625 Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) Xa26, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv.
626 *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527.
627 <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>

628 Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas*
629 *oryzae* pv. *oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–
630 277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>

631 Tharreau D, Nottoghem JL, Morel JB, et al (2007) Developing Blast Durable Resistance By Using
632 The Wild Rice Species, *Oryza rufipogon* : Presentasi RUTI IV

633 Tian D, Wang J, Zeng X, et al (2014) The Rice TAL effector-dependent resistance protein XA10
634 triggers cell death and calcium depletion in the endoplasmic reticulum. *Plant Cell* 26:497–515.
635 <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>

636 Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas*
637 *oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice.
638 *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>

639 Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger C, et al (2016) A resistance locus in the American heirloom
640 rice variety Carolina Gold Select is triggered by TAL effectors with diverse predicted targets
641 and is effective against African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. *Plant J* 87:472–
642 483. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>

643 Triplett LR, Hamilton JP, Buell CR, et al (2011) Genomic analysis of *Xanthomonas oryzae* isolates
644 from rice grown in the united states reveals substantial divergence from known *X. oryzae*
645 pathovars. *Appl Environ Microbiol* 77:3930–3937. <https://doi.org/10.1128/AEM.00028-11>

646 UTAMI DW, Barnita K, Yuriah S, Hanarida I (2011) Nucleotide Base Variation of Blast Disease
647 Resistance Gene Pi33 in Rice Selected Broad Genetic Background. *HAYATI J Biosci* 18:123–
648 128. <https://doi.org/10.4308/hjb.18.3.123>

649 Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is
650 triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv.
651 *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>

652 Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor r protein and confers broad-spectrum
653 disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>

654 Wonni I, Hutin M, Ouédraogo L, et al (2016) Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New
655 Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa. *Rice Res Open Access* 4:1–
656 8. <https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162>

- 657 Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding
658 a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. [https://](https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x)
659 doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x
- 660 Yu Y, Streubel J, Balzergue S, et al (2011) Colonization of rice leaf blades by an African strain of
661 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* depends on a new TAL effector that induces the rice nodulin-
662 3 Os11N3 gene. *Mol Plant-Microbe Interact* 24:1102–1113. [https://doi.org/10.1094/MPMI-11-](https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254)
663 [10-0254](https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254)
- 664 Zhang B, Zhang H, Li F, et al (2020) Multiple Alleles Encoding Atypical NLRs with Unique
665 Central Tandem Repeats in Rice Confer Resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant*
666 *Commun* 1:100088. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100088>
- 667 Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9.
668 <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>

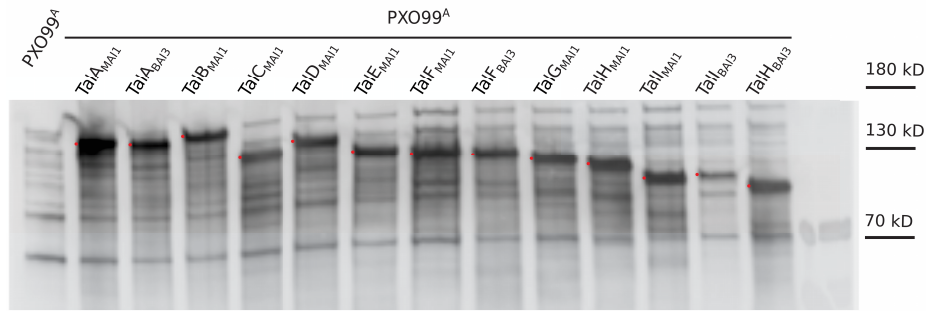


Fig. S1 Western-blot analysis of PXO99^A *Xoo* transformant total protein extracts using an anti-TALE antibody.

Protein extracts prepared from the wild-type *Xoo* strain PXO99^A and the *Xoo* strain PXO99^A carrying, on the vector pSKX1, each of the nine *tal* genes of the Malian strain MAI1 and their variants in the Burkinabe strain BAI3. Reference molecular weights are indicated at right. The expressed MAI1 and BAI3 TALE proteins are each indicated by a red dot. Bands of lower molecular weight not present in the wild-type PXO99^A extract are degradation products of the heterologously expressed TALEs, commonly observed.

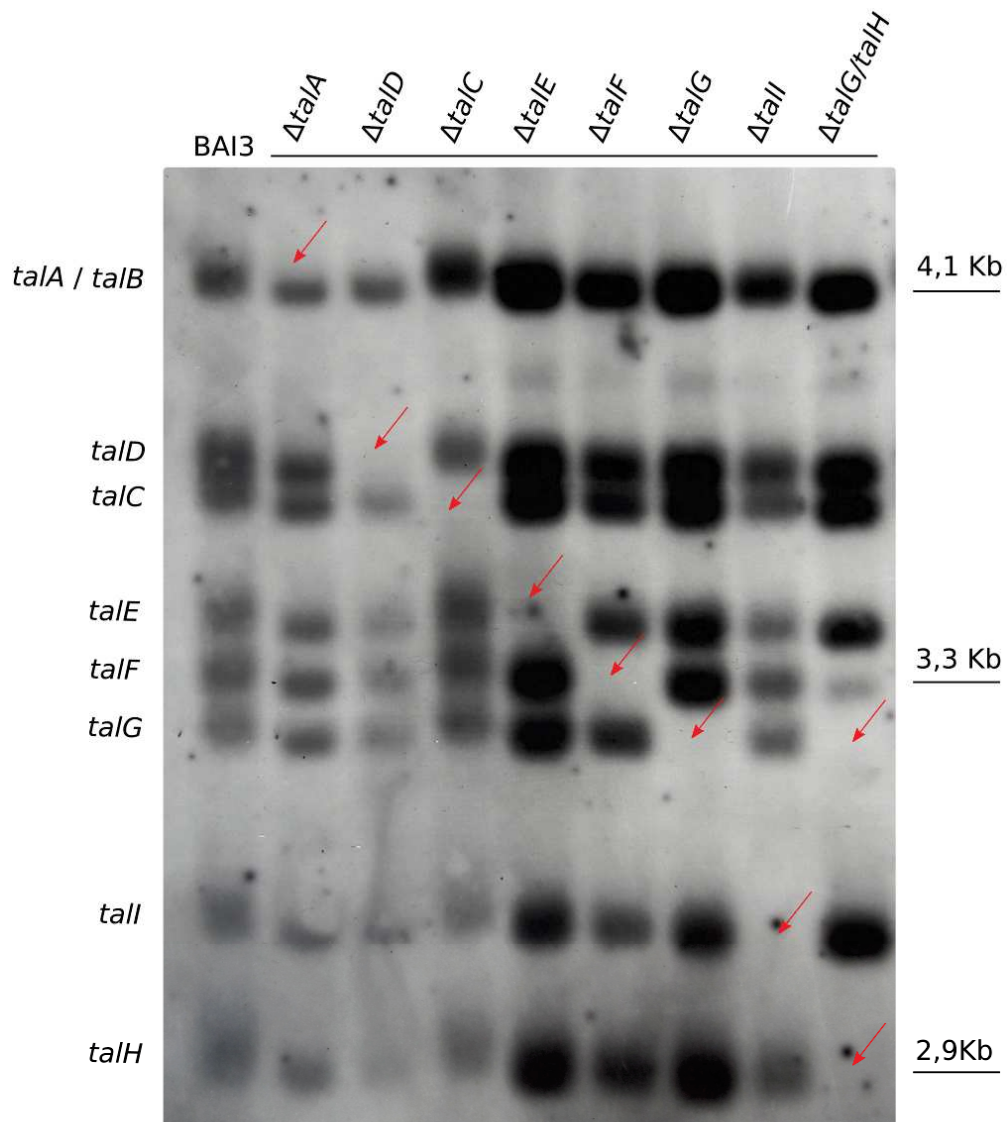


Figure S2. Molecular characterization of a library of BAI3Δtal mutant strains.

Genomic DNA of the wild-type *Xoo* strain BAI3 and derivative BAI3Δtal mutants were digested by *Bam*HI-HF which cuts on either side of the central repeat region of *tal* genes and revealed by Southern blot using a 725-bp C-terminal *talC*_{MA11} amplicon as probe (Yu et al. 2011). Individual mutants were obtained for each *tal* gene with the exception of *talH*. One double *talG/talH* mutant was analyzed instead. BAI3ΔtalB was obtained previously, also using the suicide plasmid pSM7 (Tran et al. 2018), and is therefore not included here. *tal* genes are indicated to the left and DNA sizes to the right. Red arrows indicate the *tal* gene(s) that were mutated.

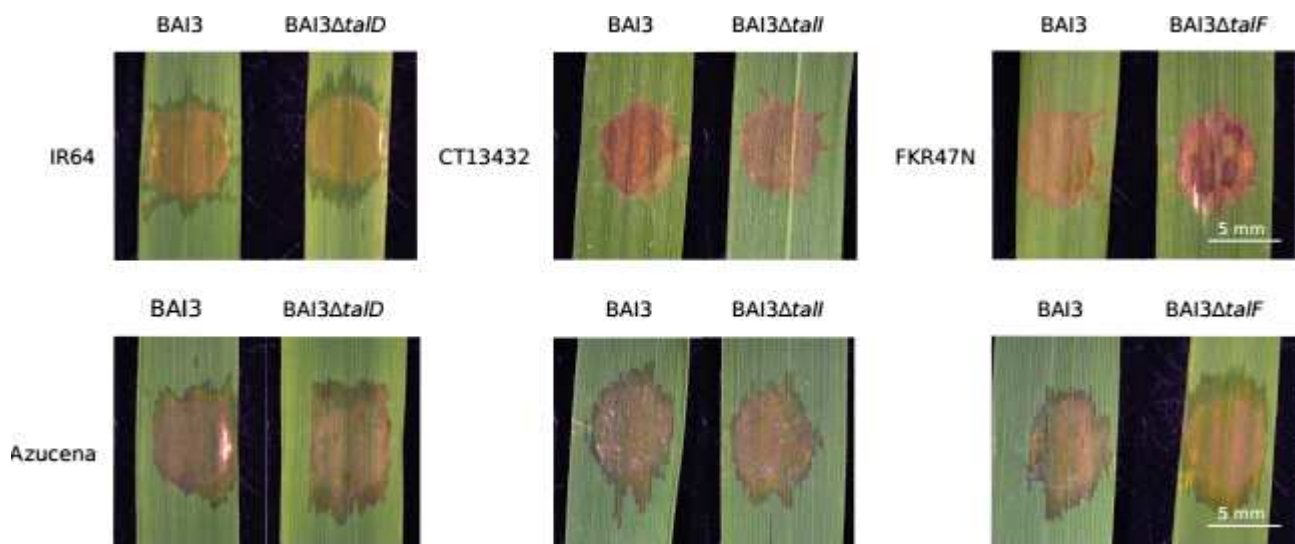


Figure S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF* mutants.

Leaves of rice varieties IR64, CT13432, FKR47N and Azucena were infiltrated with the wild type African *Xoo* strain BAI3 and the mutant derivatives BAI3 Δ *talD*, BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF*. Inoculated leaves were photographed at 5 dpi.

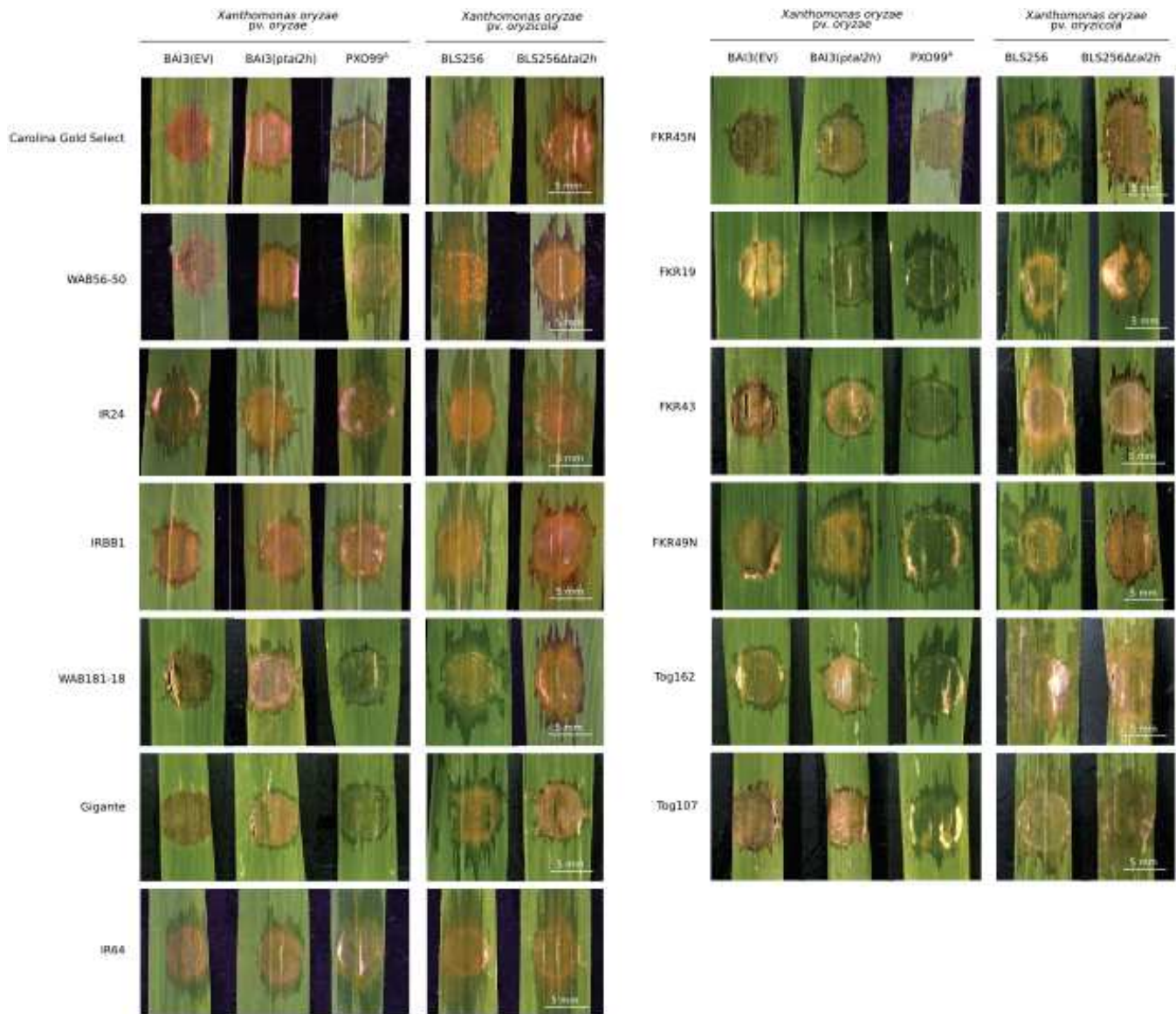


Figure S4. The *tal2h* truncTALE reveals *Xa1*-like resistance against the *Xoo* strain BAI3 in several rice varieties.

Leaves of rice accessions, including Carolina Gold Select which carries *Xo1*, and IRBB1 which carries *Xa1*, were infiltrated with *Xoc* strain BLS256 which naturally carries the *tal2h* truncTALE gene, the mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, as well as with *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector (EV) or *tal2h*. The Asian *Xoo* strain PXO99^A which harbors two truncTALEs, was used as an additional positive control. Leaves were photographed at 5 dpi.

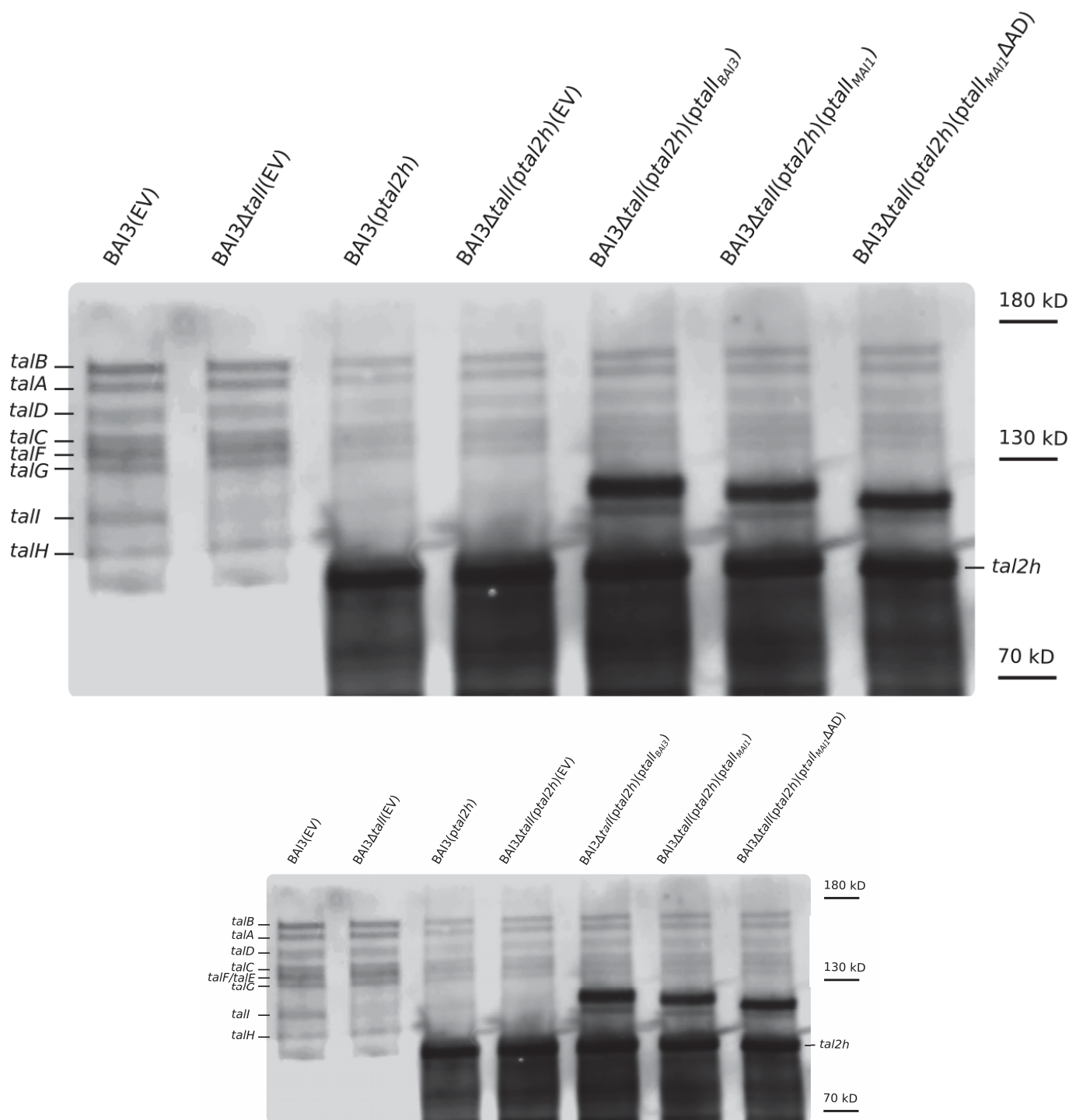


Figure S5. Western-blot analysis of *Xoo* total protein extracts using an anti-TALE antibody.

Proteins extracts prepared from *Xoo* strain BAI3 carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3Δ*talI* carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3 carrying the *tal2h* truncTALE gene, and BAI3Δ*talI* with *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3} or *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1}ΔAD. BAI3 *tal* genes and *tal2h* are indicated to the left and right, respectively. Molecular weight is indicated.

O. glaberrima set

Name§	Country of collection	Sample ORSTOM ID	IRRI IRGC accession #	IITA accession (TOG #)	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
Og_142	Senegal	CG14	96717	CG 14*	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_49	Nigeria	96793	96793	5681	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	MR
Og_81	Guinea	6205	NA	6205	<i>O. glaberrima</i>	R	R	R
Og_94	Liberia	6308	NA	6308	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	S
Og_107	Sierra Leone	96888	96888	7020	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S
Og_187	Gambia	8527	NA	8527	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	MS
Og_97	Liberia	6356	115598	6356	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_106	Sierra Leone	6951	NA	6951	<i>O. glaberrima</i>	R	S	MR
NA	Unknown	6710	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	S
Og_110	Mali	7108	NA	7108	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	S
Og_500	Guinea	YG104	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	S	MS
Og_489	Senegal	CG170	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_162	Chad	7255	NA	7255	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S
Og_108	Sierra Leone	7047	NA	7047	<i>O. glaberrima</i>	R	S	R
Og_22	Nigeria	5453	5453	5453	<i>O. glaberrima</i>	R	S	-
Og_103	Liberia	6698	NA	6698	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	MS
Og_69	Nigeria	5984	NA	5984	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_96	Liberia	6343	NA	6343	<i>O. glaberrima</i>	MR	MR	MR
Og_485	Senegal	CG140	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_507	Guinea	YG325	104189	12438	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_131	Côte d'Ivoire	10449	NA	10449	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MS
Og_496	Senegal	OG19	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	-	MR
Og_181	Burkina Faso	7451	NA	7451	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_510	Guinea	YG367	104371	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_475	Senegal	CG46	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	R
Og_213	Guinea	12401	NA	12401	<i>O. glaberrima</i>	-	MS	MS
Og_73	Nigeria	6142	NA	6142	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_504	Guinea	YG301	104182	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_498	Senegal	SG329	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	R
Og_154	Guinea	YG353	104194	12444	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	MR
Og_180	Burkina Faso	7449	NA	7449	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_67	Nigeria	5976	NA	5976	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MR
Og_105	Sierra Leone	6943	NA	6943	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_104	Sierra Leone	6790	NA	6790	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MS
Og_170	Nigeria	7280	NA	7280	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S
Og_27	Nigeria	5479	NA	5479	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_33	Nigeria	5503	NA	5503	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_151	Guinea	14367	NA	14367	<i>O. glaberrima</i>	S	S	MS
Og_243	Zimbabwe	14184	NA	14184	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_411	Côte d'Ivoire	IG35	103487	7202	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_427	Cameroon	UG20	103594	7266	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	S
Og_153	Guinea	13709	NA	13709	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_20	Nigeria	96751	96751	5438	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_111	Nigeria	5286	NA	5286	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_7	Nigeria	5314	NA	5314	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_19	Nigeria	5437	NA	5437	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_113	Nigeria	5439	NA	5439	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_79	Guinea	86805	86805	6202	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	-
Og_116	Nigeria	5533	NA	5533	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S
Og_129	Nigeria	5997	NA	5997	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_100	Liberia	6603	NA	6603	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_159	Mali	7219	NA	7219	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_184	Côte d'Ivoire	7554	NA	7554	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_163	Nigeria	12086	12086	NA	<i>O. glaberrima</i>	MS	MR	MR
Og_218	Guinea	12426	12426	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	MR
Og_164	Nigeria	12160	12160	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_491	Unknown	OG1	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_486	Unknown	CG150	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_417	Unknown	IG269	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_10	Unknown	5326	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_30	Unknown	5494	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S

O. sativa set

Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
WAB56-50	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
WAB56-104	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	S	S	S
WAB181-18	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
FKR14	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	S	S	S
FKR19	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
FKR28	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	S	S	S
FKR43	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
IR64*	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	R	MR	S
ADNY	Unknown	<i>O. sativa</i>	R	S	S
CT13432	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
Gigante	Unknown	<i>O. sativa</i>	R	R	S
IR8	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	R	S	MS
MG12	Unknown	<i>O. sativa</i>	S	MS	S
Caiapo	Unknown	<i>O. sativa</i>	MR	S	S
Azucena	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	S	S	S

O. barthii set

§ Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
530A1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S
530W1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S
523W1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S

Elite Varieties in West Africa

Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
FKR45N / NERICA 12	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR47N / NERICA 17	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR49N / NERICA 13	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR56N / NERICA-L-41	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	S	S
FKR58N / NERICA-L-60	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	S	S
FKR60N / NERICA-L-20	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	S	S	S
FKR62N / NERICA-L-19	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	S	S	S

Table S1. Rice accessions screened for resistance to African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and susceptibility to PXO99^A.

§ Name reference from Orjuela et al., 2014.

Accession names highlighted in bold are resistant or moderately resistant to MAI1 and BAI3, and susceptible to PXO99^A.

° Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after inoculation. Resistant (R); moderately resistant (MR); moderately susceptible (MS); susceptible (S).

There is a (-) when the strain was not tested on the accession.

The previous name of IRD (Institute of Research for Development) was ORSTOM : « Office de la recherche scientifique et technique » outre-mer.

IRRI IRGC : International Rice Research Institute, International Rice Genebank Collection.

NA means « Not Assigned », when no IRRI or ITTA name was assigned to an accession.

* genome accession sequenced.

		<i>CT13432</i>	<i>FKR19</i>	<i>FKR43</i>	<i>FKR45N</i>	<i>FKR47N</i>	<i>FKR49N</i>	<i>Gigante</i>	<i>WAB181-18</i>	<i>WAB56-50</i>	<i>IRBB1*</i>	<i>CGS^o</i>	<i>Og_162</i>	<i>Og_107</i>	<i>IR64</i>
Leaf-clipping (a)	MAI1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	BAI3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MR	MR	MR
	PXO99^A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Infiltration (b)	MAI1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	BAI3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Table S2. Prevalence of Xa1-like activity in rice accessions resistant to African *Xoo* strains MAI1 and BAI3.

(a) Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after leaf-clip inoculation. Resistant (R); moderately resistant (MR); moderately susceptible (MS); susceptible (S).

(b) Leaf infiltration phenotypes were scored 5 days after inoculation. (+) Hypersensitive reaction ; (-) Water-soaking.

* IRBB1 is a control accession harboring the *Xa1* resistance gene.

^o Carolina Gold Select (CGS) is a control accession harboring the *Xo1* resistance gene.

Primer	Sequence (5' to 3')	Goal	Source
Tal-Ct-Fw2	GCGTTGGCCGCGTTGACCAA	Probe amplification for Southern blotting	Yu <i>et al.</i> , 2011
Tal-Ct-Rev2	GGGGCCGCATCTTGTTCCCA		
XaL-F1	ATCAGGAACTTGAAGTCCAG	Xa1 alleles identification	Ji <i>et al.</i> , 2020
XaL-R1	AACCACTGATTGCGGAAGG		
XaL-F2	CCTCCGCAATCAGTGTT		
XaL-R2	AATGTAGCAAGCGACGCACA	Estimation of LRRs number in <i>Xa1</i> alleles	
SUT1 Fw	GTCGGTCTATACAGTGATAGGTG	Amplification of the housekeeping gene <i>OsSUT1</i>	Eom JS personal communication
SUT1 Rv	GAACAGAAGATGGAGTTAGCTGT		
ΔAD Fw	CACGCATTTGATGAGGCCATGACG	Construction of pSKX1-ΔAD	This study
ΔAD Rv	TGCCGACCTGGCAGCGTCCAGCGAGGACTACAAAGACGATGACGACAAGTGAAGCTTAA		

Table S3. List of primers used in this study.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
Strains			
Escherichia coli			
DH10β	Strain used for triparental mating		Life Technologies, Rockville, MD, USA
Helper strain	used for triparental mating, helper plasmid pRK2013	Kanamycin	Figurski and Helinski 1979
Xanthomonas oryzae pv. oryzae			
PXO99 ^A	Asian strain	Rifampicin	Hopkins et al., 1992
PXO99 ^A (pSKX1 EV)	PXO99 ^A transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Gentamicin	This study
PXO99 ^A (<i>ptales</i>)	PXO99 ^A transformed with <i>tale</i> genes of MAI1 expressed in pSKX1	Rifampicin, Gentamicin	This study
MAI1	Malian strain race A3	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
MAI1(pKEB31 EV)	MAI1 transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Tetracycline	This study
MAI1(<i>ptal2h</i>)	MAI1 transformed with <i>ptal2h</i>	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3	Burkinabe strain race A1	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3(pKEB31 EV)	BAI3 transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3(<i>ptal2h</i>)	BAI3 transformed with <i>ptal2h</i>	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (pKEB31_EV)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(pSKX1_EV)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{BAI3})	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{BAI3}	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{MAI1})	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{MAI1}	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{MAI1} ΔAD)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{MAI1} ΔAD	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
Xanthomonas oryzae pv. oryzicola			
BLS256	Asian strain	Rifampicin	Bogdanove et al., 2011
BLS256Δ <i>tal2h</i>	<i>tal2h</i> knock-out mutant of BLS256	Rifampicin, Tetracycline	Read et al., 2016
Plasmids			
pSKX1_EV	Empty vector	Gentamicin	Streubel et al., 2013
<i>ptalD</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>talD</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
<i>ptall</i> _{BAI3}	pSKX1 vector expressing <i>tall</i> _{BAI3}	Gentamicin	This study
<i>ptall</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>tall</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
<i>ptalF</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>talF</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pSKX1-ΔAD	Vector used for the expression of <i>tale</i> ΔAD derivative	Gentamicin	This study
pSKX1- <i>talF</i> _{MAI1} ΔAD	pSKX1-ΔAD vector expressing <i>talF</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pSKX1- <i>tall</i> _{MAI1} ΔAD	pSKX1-ΔAD vector expressing <i>tall</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pKEB31_EV	Empty vector	Tetracycline	Cermak et al., 2011
<i>ptal2h</i>	pKEB31 vector expressing the truncTALE <i>tal2h</i>	Tetracycline	Read et al., 2016
pSM7	Suicide plasmid for <i>tale</i> mutagenesis	Kanamycin	Cernadas et al., 2014

Table S4. Bacterial strains and plasmids used in this study.

Chapitre 2 : Identification de QTL majeurs et mineurs conférant la résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* chez le riz (*Oryza sativa* ssp. *indica*)

Contexte

Des données générées par Gustave Djedatin pendant sa thèse, rapportent l'identification dans la variété IR64 de plusieurs loci conférant une résistance spécifique aux souches Africaines de *Xoo* (Djedatin et al., 2016). Grâce à une population de lignées recombinantes (RIL, pour *Recombinant Inbred Lines*) de génération F₉ issues du croisement entre la variété résistante IR64 (*O. sativa* ssp. *indica*) et la variété sensible Azucena (*O. sativa* ssp. *japonica* tropicale), trois QTL de résistance aux souches Africaines avaient été identifiés. Par ailleurs, l'identification (dans le chapitre 1) du TALE d'avirulence TalD chez les souches Africaines MAI1 et BAI3 induisant de la résistance dans la variété IR64 pourrait rajouter une nouvelle pièce au puzzle. L'objectif de cette partie était donc dans un premier temps de confirmer et préciser les zones QTL précédemment rapportées, et dans un second temps de vérifier l'hypothèse de l'existence d'un lien entre les QTL de résistance identifiés et ce TALE d'avirulence commun à plusieurs souches Africaines.

Matériels & Méthodes/Stratégie

Dans le but de répondre à l'objectif de ce projet, j'ai eu à ma disposition les descendants F₁₁ de la population de RIL utilisée par Gustave Djedatin lors de sa thèse (2016). Cette population, composée de 210 lignées qui ont chacune été séquencée par la technologie Illumina, possède entre 1 et 1,5 million de marqueurs SNP par lignée (collab. M. Lorieux, CIAT/IRD). Toutes les lignées disponibles (donnant plusieurs plantes en capacité d'être inoculées), soit 80 lignées, ont été criblées avec les souches Africaines de *Xoo* MAI1, BAI3 et la souche Asiatique PXO99^A, dans le but de confirmer les zones de QTL précédemment identifiées. Par ailleurs, une autre population de 542 familles F_{2:3} provenant aussi du croisement entre IR64 et Azucena était à disposition au CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombie). Certaines de ces familles ont été sélectionnées car leurs F₂ étaient recombinantes au niveau des QTL identifiés à partir de la population F₁₁ sur une distance, en paires de bases, qui varie. Pour aller plus loin et pouvoir faire le lien entre un de ces QTL de résistance et le TALE d'avirulence TalD, une partie des lignées recombinante de la population F₁₁ a été criblée avec la souche sauvage BAI3 et la souche mutante BAI3[°]*talD* portant soit un vecteur vide (EV), soit complémentée avec *talD* (*ptalD*).

Résultats & Conclusion(s)

Suite à l'inoculation de 80 lignées de la population de RIL avec les souches MAI1, BAI3 et PXO99^A, plusieurs QTL impliqués dans la résistance aux souches Africaines de *Xoo* ont pu être

identifiés chez IR64. Certains des QTL identifiés lors de cette étude coïncident avec ceux précédemment rapportés par Gustave Djedatin (2016). D'autres n'ont pas été retrouvés, mais de nouveaux QTL ont été mis en lumière. De plus, le criblage d'une partie de la population F₁₁ a permis d'établir un lien entre le QTL de résistance au niveau du chromosome 11 et le TALE d'avirulence TalD. Pour finir, l'utilisation d'une population F_{2:3} IR64 x Azucena, a permis de réduire à 25 kb l'intervalle du QTL sur le chromosome 11, diminuant ainsi le nombre de gènes candidats à seulement quatre.

Perspectives

Des analyses du transcriptome avec les souches sauvages MAI1 et BAI3, et avec la souche mutante BAI3 Δ talD transformée avec un vecteur vide, ou complémentée avec *talD*, pourraient être entreprises. Ces analyses permettraient d'identifier, d'une part, les potentiels gènes exécuteurs candidats ciblés par TalD dans les QTL sur le chromosome 11, et d'autre part, de mettre en évidence les voies communes et spécifiques de la résistance induites par MAI1 et BAI3 chez IR64.

Par la suite, le *knock-out* ou *knock-down* par édition des gènes candidats, par CRISPR-Cas9 par exemple, ainsi que le clonage de ces derniers et leur transformation dans des variétés sensibles (i.e. complémentation fonctionnelle), permettrait de confirmer que les gènes candidats sont bien responsables de la résistance observée sur IR64 suite à l'inoculation de MAI1 et BAI3.

Implication personnelle

Mathias Lorieux m'a accompagnée dans les analyses des données de cartographie, et l'utilisation des logiciels MapDisto, Qgene et QTL IciMapping. Mathias L. a également réalisé le séquençage du matériel génétique (populations), identifié les marqueurs SNP, et réalisé l'imputation de ces données avec le logiciel NOISYmputer. Les graphiques avec les données de cartographie ont été réalisés sous R et MapDisto par moi-même. Émilie Thomas a participé aux semis des lignées de la population de RIL F₁₁ pour les expérimentations, ainsi que pour la propagation des graines. Le reste des expériences a été entièrement réalisé par mes soins (inoculation des souches bactériennes, lectures des lésions, analyse des données).

Identification of major and minor QTLs conferring resistance to African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice (*Oryza sativa* ssp. *indica*)

Marlène Lachaux¹, Mathias Lorieux², Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²DIADE DIversity-Adaptation-DEvelopment of plants, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, CNRS, Montpellier, France

Abstract

Caused by the gram-negative bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), Bacterial Leaf Blight (BLB) is considered among the most devastating diseases in Asia and Africa, causing up to 50% of yield losses. Studies on the diversity of *Xoo* strains reported that African *Xoo* are genetically distant from Asian ones and they trigger specific resistance sources in rice. Nonetheless, to date few resistance QTLs or major resistance genes effective against African *Xoo* strains have been identified, compared to Asian strains. As BLB represents a major threat in West Africa, breeding programs have implemented various strategies, such as pyramiding of several *R* genes into commercial rice varieties, in order to minimize epidemic consequences.

In this study, using Recombinant Inbred Lines (RILs) from the cross between the elite *indica* IR64 variety and the tropical *japonica* Azucena landrace, a mapping analysis revealed novel, shared and specific resistance QTLs against African *Xoo* strains. Moreover, our results suggest that one of the QTL (*qABB-11*), conferring resistance to four African strains of *Xoo*, is associated to the avirulence gene *talD* which we previously have shown to promote resistance on IR64.

Introduction

The ancient domesticated crop, rice (*Oryza sativa* L.) is a staple food for much of the world's population and one of the most widely cultivated crops on Earth (Ainsworth 2008). Unfortunately, the continuous increase in production to meet the strong demand due to the population growth faces many challenges. In nature, plants face multiple abiotic stress caused by droughts, floods and extreme temperatures, or biotic stress promoted by diverse and widespread pathogens causing numerous diseases. Following the recent expansion and intensification of rice cultivation in Africa, major threats that could cause severe production losses have emerged. Indeed, since the 1980s Bacterial Leaf Blight (BLB) disease, caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), has been reported in several regions of Africa (Gonzalez et al. 2007; Verdier et al. 2012). *Xoo* represents a significant threat for agriculture and global food security, as it can cause up to 50% of yield losses depending on several parameters, as the rice variety, the environmental conditions and the host growth stage (Liu et al. 2014).

To overcome this threat, breeding programs have implemented various strategies, such as development of resistant lines or cultivars which is more effective and economical way of control than chemicals. In order to do this, *R* genes against *Xoo* are required, and thankfully, to date in rice more than 40 *R* genes have been identified and among them 12 have been cloned (Jiang et al. 2020). The identified resistance genes encode different types of proteins that suggest multiple mechanisms of resistance to *Xoo*. Of the 12 rice *R* genes characterized to date, only 3 (*Xa3/Xa26*, *Xa4*, and *Xa21*) encode protein kinases and 9 (*Xa1*, *xa5*, *Xa7*, *Xa10*, *xa13*, *Xa23*, *xa25*, *Xa27*, *xa41*) involve *Xanthomonas* TAL effectors. Four of them are executor (*E*) genes (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* and *Xa27*) uniquely induced by TALEs found in Asian *Xoo* strains (Hopkins et al. 1992; Gu et al. 2005; Wang et al. 2014), four are recessive loss-of-susceptibility resistance alleles including *xa5* (*OsTFIIA γ 5*), *xa13* (*OsSWEET11*), *xa25* (*OsSWEET13*), and *xa41* (*OsSWEET14*) (Römer et al. 2010; Liu et al. 2011; Hutin et al. 2015), and only one, *Xa1*, encodes an NLR (nucleotide-binding domain leucine rich repeat) (Yoshimura et al. 1998). Widely deployed in breeding programs as single *R* gene, some of them were unfortunately overcome by certain races of the pathogen. For example, strains with mutated *avrXa7* overcome the resistance mediated by *Xa7*, and the deployment of *Xa4* on 80% of total rice farming area in Philippines favored the emergence of *Xa4*-overcoming strains (Mew 1992; Vera Cruz et al. 2000; Quibod et al. 2020). Moreover, the resistance gene *xa5*, yet effective against a broad spectrum of *Xoo* strains, is ineffective against strains that possess the TALE gene *pthXo1* such as PXO99^A and PXO71 (Huang et al. 2016). Therefore, to prevent breakdown of resistance due to pathogenic variation in *Xoo*, enhancing host resistance by pyramiding two or more effective resistance genes into commercial rice varieties, is considered the most effective strategy to achieve durable disease resistance in rice. For example, the resistance genes *Xa7* and *Xa21* have been

introgressed into the susceptible line "Minghui 63", a restorer line widely used in hybrid rice production in China. This line and others having only one of the resistance genes were evaluated for resistance after inoculation with 10 isolates of pathogens, and the pyramided double resistance line "Minghui 63" showed a higher level of resistance to BLB than the others, clearly indicating that pyramiding of dominant genes is a useful approach for improving BLB resistance in rice (Zhang et al. 2006).

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* strains from Asia and their counterpart from Africa although having the same mode of infection, differ in some points. First, they are genetically distant from each other and the African *Xoo* lineage is closer to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) which is the causal agent of bacterial leaf streak (Poulin et al. 2015). Moreover, a particular feature of African *Xoo* is their restricted TALome (*tal* genes repertoire) compared to Asian *Xoo*, with up to 9 and 19 copies respectively. Furthermore, no TALE is conserved between African and Asian strains (Lang et al. 2019), suggesting that they promote different sources of resistance. While many studies have been conducted these last years on Asian *Xoo* strains in order to identify effective resistance sources in rice germplasm, much less is known about African *Xoo* which were discovered more recently. Nonetheless, some works have reported the identification of resistance sources against African *Xoo*. IRBB Near-Isogenic Lines (NILs) introgressed with *Xoo* resistance genes were screened against several African *Xoo* strains. Some of them showed resistance phenotype, indicating the existence of underlying resistance genes that could be useful to control African *Xoo* (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020). Moreover, Djedatin et al. identified, upon screening of a rice germplasm, 20 accessions of *O. glaberrima* highly resistant to the Malian *Xoo* strain MAI1 and two accessions moderately resistant to the Burkinabe *Xoo* strain BAI3. For *O. sativa*, five accessions were identified to be highly resistant to the African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and BAI4 (Djedatin et al. 2011). To provide new resistance sources to breeders, improved varieties such as NERICA (NEw RICE for Africa) were also tested. NERICA varieties are derived from the interspecific crosses between Asian *O. sativa* spp. known for their high yield, and African *O. glaberrima* accessions which are adapted to withstand various local biotic and abiotic stresses. Among the 11 elite rice varieties tested, five of them were shown to control the three African *Xoo* strains assessed in this study, while Asian *Xoo* strains turned out to be virulent on the same varieties (Wonni et al. 2016). Djedatin et al. (2016) identified resistance sources in the elite rice variety IR64 against four African *Xoo* strains, from three different races. Using a population of Recombinant Inbred Lines (RILs) resulting from the cross between the elite variety IR64, highly resistant to African *Xoo* strains, and the susceptible variety Azucena, they were able to identify five quantitative trait loci (QTLs) of resistance on chromosomes 1, 7, 9, 10 and 11. Of these QTLs the one on chromosome 11 is shared by African and Asian *Xoo* strains (Djedatin et al. 2016). Recently, Bossa-Castro et al. (2018) also

mapped several disease resistance QTLs effective against African *Xoo* strains using Multiparent Advanced Generation InterCross (MAGIC) populations for interval mapping (IM) and GWAS analyses. The QTLs of resistance identified were located on most of the 12 chromosomes but not on chromosomes 3, 6, 8 and 9 (Bossa-Castro et al. 2018). Interestingly, the QTL of resistance found on the chromosome 11 which confers resistance to African and Asian *Xoo* strains, seems to be also effective against *Xoc* (Djedatin et al. 2016; Bossa-Castro et al. 2018). More recently, Lachaux et al. shed light on the presence of an *Xa1*-like resistance source effective against African *Xoo* in six *O. sativa* spp. accessions and three NERICA varieties. Besides, the TAL effector TalD from the MAI1 and BAI3 strains was found to act as an avirulent factor on the IR64 variety, highlighting another mechanism of resistance against African *Xoo* (Lachaux et al. preprint).

In this study, in order to identify underlying resistance sources against African *Xoo* strains, populations of RILs of F₁₁ and F₃ generation from the cross between the highly disease resistance elite *indica* variety IR64 and the highly susceptible *japonica* variety Azucena, were used to evidence resistance QTLs by mapping analysis. In a previous study, two resistance loci against African *Xoo* strains were identified on chromosome 7 and 11, located in an interval defined by markers RM481 and RM214 (representing ~10 Mb), and by markers RM224 and RM144 (representing ~1 Mb), respectively, mapped on Nipponbare (Djedatin et al. 2016). Herein, we report on the identification of new loci of resistance against African *Xoo* and the base pairs reduction of the interval of these two previous QTLs on chromosomes 7 and 11. Moreover, we show a correlation between the presence of *talD* and the resistance phenotype conferred by the QTL on chromosome 11 suggesting that TalD-mediated resistance could depend on a gene localized in this QTL.

Generation of RILs from the IR64 x Azucena Population	<i>Xoo</i> strains	Lesion lengths (cm) on		
		IR64	Azucena	RILs
F ₁₁	MAI1	1.6 ± 0.5	16.5 ± 4.7	0.1 to 40
	BAI3	6.9 ± 2.7	22.8 ± 8.3	0.5 to 40
	PXO99 ^A	17.5 ± 2.3	21.0 ± 4.6	0.8 to 38

Table 1. Lesion lengths induced by African *Xoo* on recombinant inbred lines of the F₁₁ generation and their parents.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Results

Combination of two data sets before mapping analyses

Prior starting the analyses, since our data are based on the analysis of an F₁₁ population itself deriving from an F₉ population which was described in previous reports (Djedatin et al 2016), we first considered completing our dataset (80 lines of the IR64 x Azucena F₁₁ population) with Djedatin's data consisting in 148 lines of an IR64 x Azucena F₉ population. When a data for a line family was available in both datasets, we kept our data for subsequent analyses. In contrast, when a data was missing from our dataset and available in Djedatin's, we included Djedatin's data, leading to a total of 159 RILs to be used for our analyses.

Screening of the IR64 x Azucena F₁₁ population with *Xoo* strains

In order to identify resistance sources against the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, 80 F₁₁ lines resulting from a cross between IR64 x Azucena were screened. The average lesion lengths induced by *Xoo* African strains on IR64 and Azucena were respectively of 1.6 cm ± 0.5 and 16.5 cm ± 4.7 with *Xoo* MAI1; and of 6.9 cm ± 2.7 and 22.8 cm ± 8.3 with BAI3. The disease scores of the RILs range widely, from as low as 0.1 cm to as high as 40 cm, and 0.5 cm to 40 cm with *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively (Table 1). Here, the continuous variation of the mean of lesion lengths indicates the existence of several QTLs underlying the segregation of resistance (Fig. 1). Regarding the overall distribution of lesion lengths caused by BAI3 on the population of RILs, there is no concentration of phenotypic value around a particular one. Additionally, as shown in Fig. 2, the density curve of the lesion lengths exhibits for BAI3 an approximately normal distribution with transgressive segregation towards both directions, meaning here that the *Xoo* strain BAI3 is controlled by several minor QTLs of resistance. A contrario for MAI1, the density curve shows a phenotypic concentration around the same value, meaning that one major QTL and some minor ones are likely controlling the resistance to *Xoo* strain MAI1 (Fig. 2). Both parents, IR64 and Azucena, are susceptible to Asian *Xoo* strain PXO99^A with an average lesion length of 17.5 cm ± 2.3 and 21 cm ± 4.6, respectively. The lesion lengths of the RIL population inoculated with PXO99^A range from 0.8 to 38 cm (Table 1), and the continuous variation of lesion means indicates that some resistance to the Asian strain is also controlled by QTLs (Fig. 1). Moreover, the distribution in the RILs population of the lesion lengths caused by PXO99^A does not show a concentration of phenotypic value at the same point, as depicted by the density curve which exhibits an approximately normal distribution with transgressive segregation towards both directions. These data indicate that PXO99^A is controlled by several minor QTLs of resistance (Fig. 2).

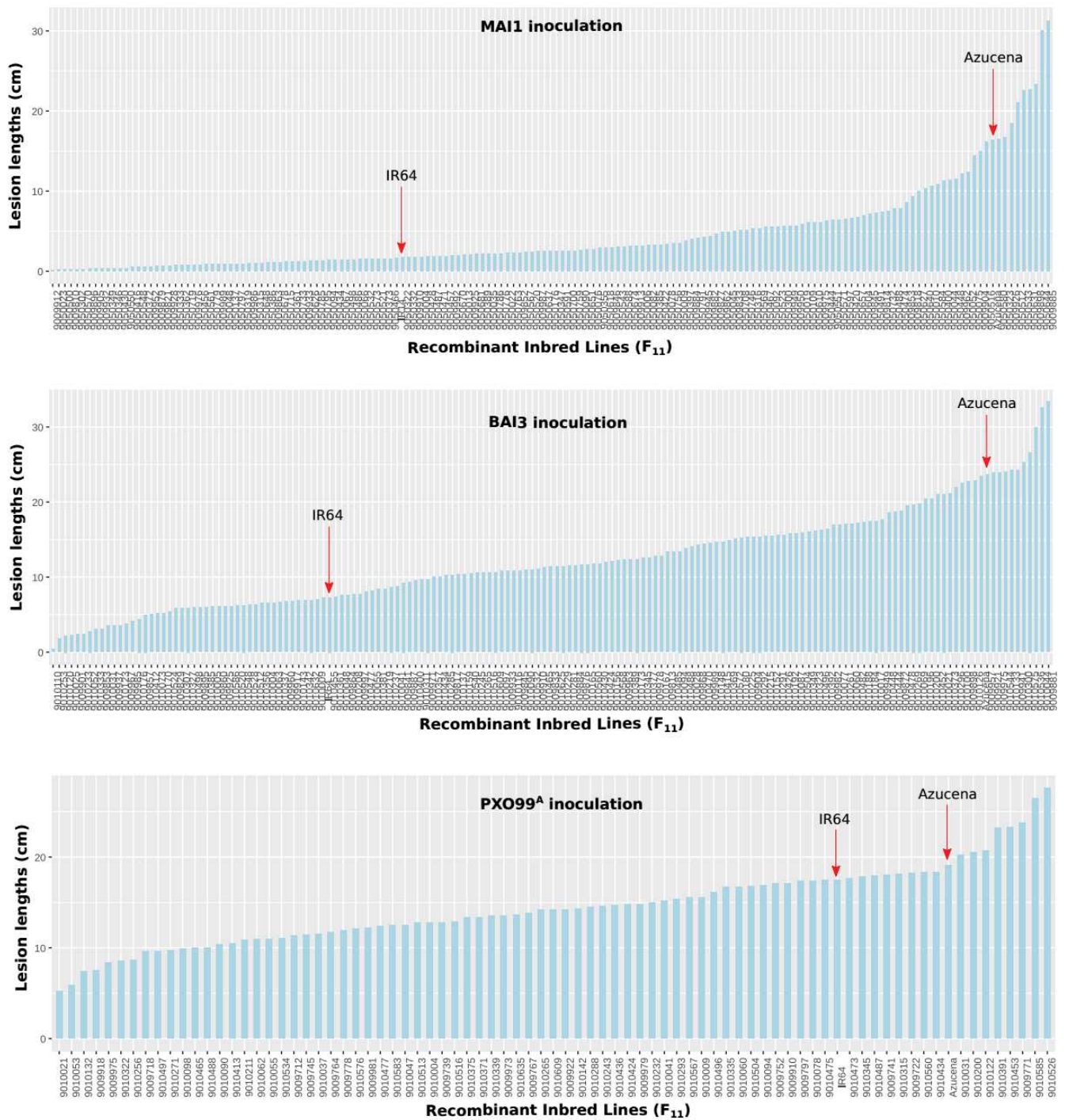


Figure 1. Lesion lengths distribution in the F_{11} population following inoculation with African and Asian strains of *Xoo*.

Leaves of RILs from the IR64 x Azucena F_{11} population and of the two control parental varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and with the Asian *Xoo* strain PXO99^A, by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of four measurements of three repetition.

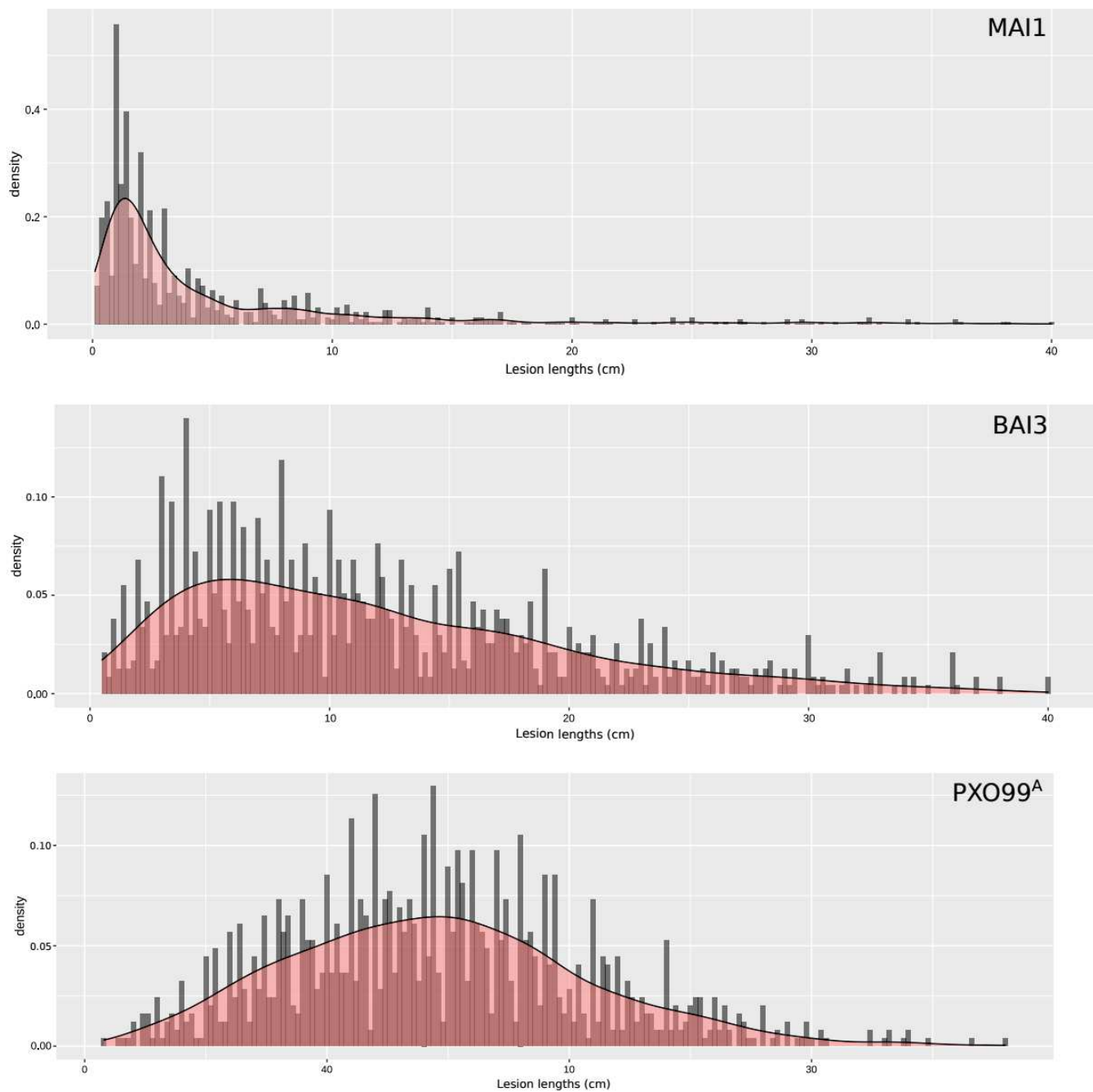


Figure 2. Density curve of the lesion lengths of the F_{11} population following inoculation with African and Asian *Xoo* strains.

Histogram of lesion lengths distribution on the IR64 x Azucena F_{11} population and the rice control varieties IR64 and Azucena, representing the lesion length counts for MAI1, BAI3 and PXO99^A *Xoo* strains. The red curve represents the density of the lesion length counts.

Identification of Resistance Quantitative Trait Loci using SNP markers

The genetic map used in this study for the IR64 x Azucena F₁₁ population was composed of 1 to 1.5 million SNP markers called from the IR64 genome. The imputed collapsed SNP x RILs matrix obtained after removing the SNPs located outside of the recombination breakpoints, ended up with 12,506 SNP markers. The SNPs covered 1492.1 cM of the genome with an average inter-marker interval of 0.119 cM. Analysis of variance (ANOVA) carried out using the MapDisto software (Lorieux 2012), evidenced seven putative QTLs providing resistance against the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and two putative QTLs against the Asian *Xoo* strain PXO99^A (Table 2; Fig. S1). Two of them, *qABB-7* and *qABB-11*, respectively positioned on chromosomes 7 and 11, are explaining a large part of the phenotype variation, and were already reported previously (Djedatin et al., 2016). *qABB-7*, specific to MAI1, is linked to the SNP markers Chr07_6044549 and Chr07_6314584, with a LOD score of 17.7 and a percentage of variance explained (R^2) of 36%. *qABB-11*, for its part, is linked to the SNP markers Chr11_30635775 and Chr11_30871520, with a LOD score of 2 and 7.2 for MAI1 and BAI3, respectively. This latter QTL controls 5% and 18.4 % of the phenotypic variation induced by MAI1 and BAI3, respectively (Table 2). The other resistance QTLs evidenced in this study to confer resistance against MAI1 and BAI3 highlighted a more minor effect. Related to the strain PXO99^A, two QTL were evidenced on chromosomes 5 and 9. Additive effect, linked markers, LOD score value and PVE (Percentage of Variance Explained) related to the African and Asian *Xoo* strains are summarized in Table 2. The estimated additive effects from the ANOVA show that these loci derive from the resistant parent IR64, expect for *qABB-8* and *qBB-5* which derive from Azucena. Most importantly, we were able through the use of a great number of markers to decrease the QTL size intervals of *qABB-7* and *qABB-11*, previously identified by Djedatin *et al.* (2016), from 10 Mb to 300 kb, and from 1 Mb to 250 kb, respectively. Previous work reported *qABB-11* to be involved in the resistance against the four following African *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3 (Djedatin et al., 2016). Since these four *Xoo* strains evidence the same QTL, we made the hypothesis that this major resistance QTL might be elicited by a conserved type-3 effector.

Association of *qABB-11* with the presence of TalD

Owed to their importance in the Rice-*Xoo* pathosystem, we first paid attention to TAL effectors repertoires. As shown in Fig. 3, our analysis show that all four strains display a similar set of TALEs clustered in nine groups, including four that are absolutely monomorphic namely TalC, TalD, TalE and TalG. In a previous study, Lachaux et al. reported the role of TalD in the avirulence activity of BAI3 on IR64 (Chapter 1). TalD being highly conserved between the four African *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3 (Fig. 3), we aimed at testing whether this TAL effector could be

<i>Xoo</i> strains	Country of origin	QTL localization: chromosome	QTL name	$-\log_{10}(p)$	LOD score	Closely linked markers	Marker position (cM)	Additive effect	Donor Allele	PVE (%)
MAI1	Mali	3	<i>qABB-3a</i>	3	2.4	Chr03_34450781- Chr03_34491227	146.02	0.03	IR64	5.9
		4	<i>qABB-4</i>	2.7	2.1	Chr04_18387103- Chr04_18407020	40.96	0.03	IR64	5.2
		7	<i>qABB-7</i>	18.5	17.7	Chr07_6044549- Chr07_6314584	37.92	0.7	IR64	36
		11	<i>qABB-11</i>	2.6	2	Chr11_30635775- Chr11_30871520	87.15	0.03	IR64	5
BAI3	Burkina Faso	3	<i>qABB-3b</i>	3.3	2.7	Chr03_3985130- Chr03_4006689	22.87	0.04	IR64	7.3
		8	<i>qABB-8</i>	3	2.4	Chr08_27811802- Chr08_27830287	93.85	-0.04	Azucena	6.5
		11	<i>qABB-11</i>	7.9	7.2	Chr11_30635775- Chr11_30871520	87.15	0.07	IR64	18.4
PXO99 ^A	Philippines	5	<i>qBB-5</i>	3.9	3.2	Chr05_25230006 - Chr05_25230041	93.89	-1.8	Azucena	16.3
		9	<i>qBB-9</i>	4.5	3.9	Chr09_19297877- Chr09_19665133	57.65	1.9	IR64	19.1

Table 2. List of QTL revealed by the inoculation of African and Asian *Xoo* strains on the F₁₁ IR64 x Azucena population.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

$-\log_{10}(p)$: represent the logarithm of the p-value

LOD : Logarithm of odds

PVE : Percentage of Variance Explained

associated with the resistance conferred by *qABB-11* towards the tested African *Xoo*. To this end, we searched for RILs in the F₁₁ population that would be carrying the IR64 alleles at *qABB-11* while maintaining Azucena alleles at the level of the other QTLs targeted by BAI3 and MAI1. Unfortunately, this combination was not found in our population, so we selected lines that were IR64 at *qABB-11*, Azucena at *qABB-4* and *qABB-7*, and Azucena or IR64 at *qABB-3b* and *qABB-8*. Only three RILs corresponding to most of our criteria were available, and were named K11_9009985, K11_9010412 and K11_9010488. As shown in Fig. 4, the selected lines and control plants were next leaf-clip inoculated with the wild-type *Xoo* BAI3, and the BAI3 Δ *talD* derivative mutant strain carrying either an empty vector (EV) or complemented with TalD (*ptalD*). Notably, as expected the three strains produced WT-like symptoms on Azucena with lesion lengths close to 25 cm, indicating that the inactivation of *talD* did not affect BAI3 virulence, as previously seen in Chapter 1.

BAI3 promoted reduced lesions on the two RILs K11_9009985 and K11_9010412, probably because these RILs harbor two resistance loci to BAI3, either *qABB-8* and *qABB-11*, or *qABB-3b* and *qABB-11*, respectively. In contrast, an increase of lesion lengths was observed on K11_9010488, potentially because only the locus of resistance, *qABB-11*, is present in this line (Fig. 4). These results suggest that the combination of *qABB-11* with other resistance loci, such as *qABB-3b* or *qABB-8*, is required for optimal resistance in IR64.

When *talD* was inactivated in the mutant strain BAI3 Δ *talD*, an increase in lesion lengths is observed to certain extent upon the inoculation of IR64, but more strikingly when the RILs K11_9009985 and K11_9010412 were challenged (Fig. 4). *qABB-11* being the only QTL common to IR64 and the two RILs, this raised the hypothesis that TalD might be involved in triggering the *qABB-11* resistance. As a matter of fact, complementation of BAI3 Δ *talD* with a plasmid-borne copy of *talD* restored the capacity of the strain to trigger resistance on IR64, K11_9009985 and K11_9010412 (Fig. 4). Elevated resistance was also observed upon inoculation of K11_9010488 although it only has *qABB-11*. We assume here that the overexpression of *talD* is sufficient to promote such phenotype. Overall, these observations suggest that the locus *qABB-11* is connected to the presence of TalD, but that this locus is not sufficient to promote resistance if it is not induced in combination with either *qABB-3b* or *qABB-8*.

Strains of *Xoo* with RVD variations in TalD are virulent on IR64

Upon a comparative analysis of the TALomes of a dozen of African *Xoo*, Doucouré et al. (2018) showed some strains to encode a new variant of the TalD group that was previously shown to be conserved across MAI1, BAI3, and CFBP1947. In order to test if this one polymorphic RVD variation could affect *Xoo* TalD-dependent avirulence activity on IR64, six Malian *Xoo* strains

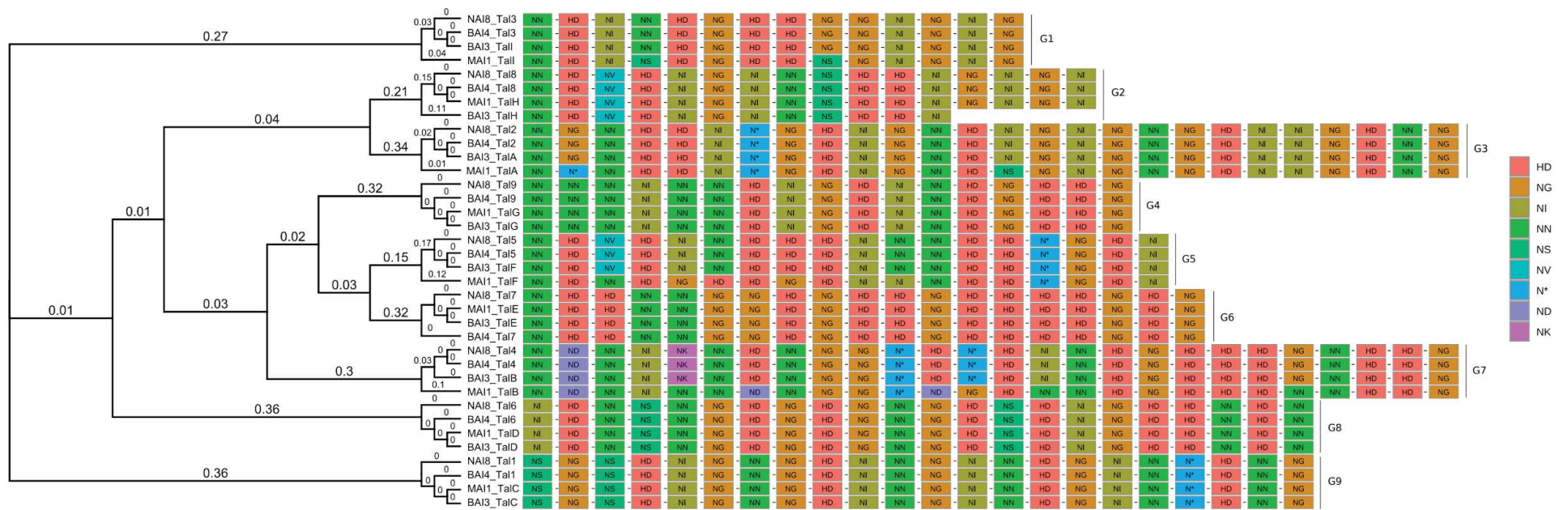


Figure 3. RVD sequences comparison of the TALome of *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3.

FuncTAL was used to estimate distances based on the predicted TALE affinity. The dendrogram on the left shows estimated relationships, where numbers represent the distance between the position weight matrices calculated for each TALE. Central alignments depict RVD strings for each TALE variant, where each box represents a repeat with its RVD. Boxes are colored according to RVD type. Labels on the right indicate the different groups of TALEs.

harboring the TalD new variant were inoculated on IR64 and the Azucena susceptible control (Fig. 5; Table S1). Interestingly our results show that IR64 is susceptible to strains MAI106, MAI145 and MAI99, characterized by an average lesion length ranging from 12 to 16 cm. Two other strains, MAI73 and MAI95 were also able to cause lesions that were significantly longer than the ones caused by *Xoo* MAI1 on IR64. Although still preliminary, these results suggest that a variation in TalD RVDs may affect its avirulence activity. Moreover, in a systematic RFLP-based analysis of the TALome of about 200 *Xoo* strains from Burkina Faso (Diallo et al., in prep), the strain BAI192 was found to be lacking a *talD*-RFLP band and therefore included in our assay. Interestingly, this strain remained fully avirulent on IR64 (Fig. 5), suggesting that other signals in this strain may be at play to trigger resistance in this variety.

Fine mapping of the QTL intervals on chromosomes 7 and 11

In addition to the IR64 x Azucena F₁₁ population, another population of segregating lines composed of 542 F_{2:3} families also deriving from the cross between IR64 and Azucena was made available to us (CIAT, Colombia). The genetic map used for these F_{2:3} families was composed of 1 to 1.5 million SNP markers called from the Nipponbare genome. The imputed collapsed SNP x F_{2:3} families matrix obtained after removing the SNPs located outside of the recombination breakpoints, ended up with 15,745 SNP markers. The SNPs covered 1467.5 cM of the genome with an average inter-marker interval of 0.093 cM. Of these families, 19 were selected owed to the genotype of the corresponding F₂ that exhibited signs of recombination within QTLs *qABB-11* and *qABB-7*. Hence, they were subjected to pathogenicity assays using MAI1 and BAI3 *Xoo* strains.

The average lesion lengths induced by *Xoo* African strains on IR64 and Azucena were respectively of 0.75 cm ± 0.17 and 23.9 cm ± 4.95 with MAI1; and of 5.37 cm ± 3.02 and 28.56 cm ± 5.85 with BAI3. The disease scores of the F₃ families ranged widely, from as low as 0.2 cm to as high as 36.2 cm with MAI1, and from 1 to 40 cm with BAI3 (Table 3).

Twelve and seven families respectively segregating in *qABB-7* and *qABB-11*, as well as the two control varieties IR64 and Azucena, were inoculated with MAI1 and BAI3. Regarding *qABB-7*, the use of the F₃ lines was not helpful to downsize the QTL interval, leaving us with a 300 kb interval. With regard to the seven F₃ families segregating in *qABB-11*, we first considered the recombinants displaying Azucena allele in the QTL interval (left side of Fig. 6A), and assumed that if the resistance source to BAI3 is at the same location of these Azucena alleles, there should be no resistant plants in the F₃. Moreover, as the genotype of these lines for *qABB-8* is the same, this QTL can be ignored for now. These four families all displayed at least four F₃ resistant plants (lesion lengths < 10 cm), meaning that the resistance source is not located where the Azucena alleles are. Plus, as the distribution of lesion lengths in the F₃ progeny is not significantly different between

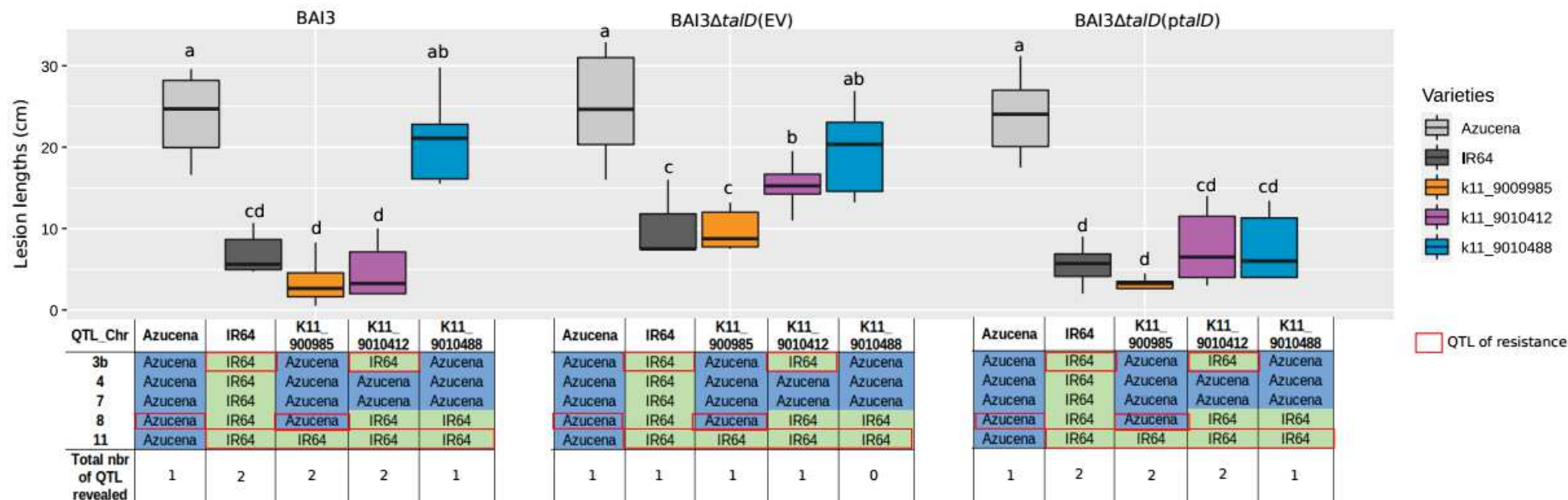


Figure 4. Linkage of an avirulent TALE to the QTL on chromosome 11 conferring resistance to African *Xoo* strains.

Leaves of three RILs from the IR64 x Azucena F_{11} population, selected to be IR64 at the genetic level on at least the QTL on chromosome 11, and of the two control varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3, and with the mutant strain BAI3 Δ talD either carrying an empty vector (EV) or complemented with *talD* (*ptalD*), by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Statistical tests were realised under R software using the non-parametric test KRUSKAL-WALLIS and DUNN TEST. Below, the tables represent the genotype of each QTL for each RIL and the two control varieties, as well as the total number of potentially induced QTL based on the inoculated strain. Highlighted with a red box the presence of resistance QTL in the genome of each RIL and control varieties.

these four families, the two markers with different alleles in the 3009771 F₂ cannot be considered to reduce the QTL interval size. Regarding these results, the size of the QTL interval can be reduced to the six first markers (Fig. 6B).

Next, we looked at the families with IR64 in the QTL interval (right side of Fig. 6A). Comparing the families 3009540 and 3009548 displaying contrasted phenotypes of resistance and susceptibility respectively, the F₂s all share the same allelic content at the QTL on chromosome 3. Moreover, the QTL on chromosome 8 is either completely IR64 – so is not containing the resistance source as it is provided by the Azucena parent – for 3009540 F₂ or heterozygous (containing one copy of the allele with the resistance source) for 3009548 F₂. Regarding the QTL on chromosome 11 which is recombinant, the 3009548 F₂ has eight additional heterozygous markers in comparison with 3009540 F₂. As the QTL on chromosome 3 has a homogeneous allelic content among families, we can ignore it and focus on the QTLs on chromosomes 8 and 11. In the 3009540 F₃s, we observe many resistant plants and some susceptible plants, while in the 3009548 family very few plants are resistant and many more are susceptible. Here we observe a loss of resistance in correlation with the increase of heterozygous markers in the QTL on chromosome 11. Therefore, we can assume that the source of resistance at the *qABB-11* QTL is located within the interval defined by the eight markers in 3009548 that differ from 3009540. By intersecting the results obtained with the recombinant families with Azucena and those with IR64, we could narrow the QTL interval down to 25 kb ranging from Mrk 3 to Mrk 6 (Fig. 6B).

Synteny of QTL intervals and gene annotation

The genomic region of *qABB-7*, which is of 300 kb, and of *qABB-11*, initially of 250 kb, were aligned between the resistant and susceptible variety through the use of the Synteny View tool of the Rice Genome Hub Platform (Fig. S2, (Droc et al. 2019)). Despite the fact these regions are syntenic and include homologous genes, the Azucena genome presents more genes in these intervals than the IR64 genome. The interval of *qABB-7* displays 52 genes for Azucena while for IR64 there are 39 genes, and for *qABB-11*, 148 genes are found for Azucena, in contrast to 108 for IR64 (Table S2). Regarding the reduced interval of 25 kb for *qABB-11*, only four candidate genes could be reported, G1 to G4, each respectively coding for an RNA recognition domain-containing protein, a RHOMBOID-like protein, an expressed protein, and a GRAS domain-containing protein (Fig. 6B). The amino-acid sequence of each gene was aligned between the genome of IR64, Azucena and Nipponbare rice varieties with the program Clustal Omega (1.2.4). The protein encoded by G2 is the only one which is completely conserved, and the protein encoded by G1 is the one with most differences, between the three genomes (Fig. S3). On the opposite, from a promoter point of view, considering the 1000 bp upstream of these four genes, the G2 promoter is the less conserved,

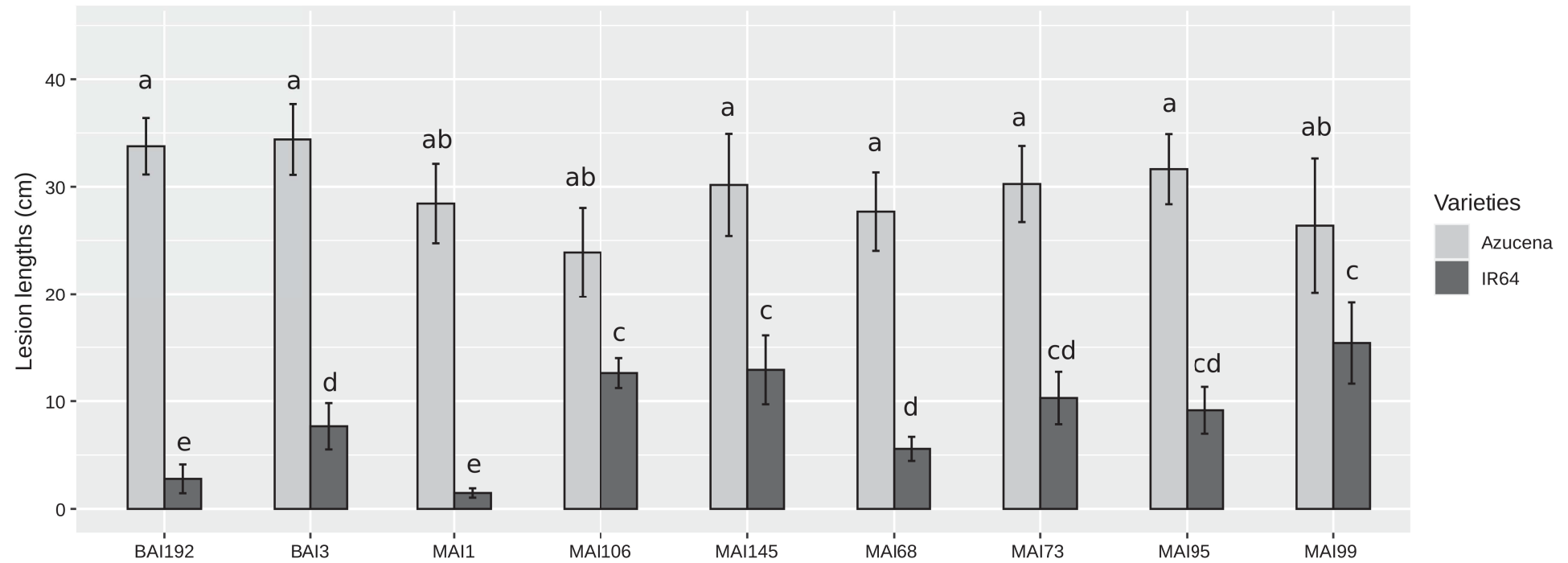


Figure 5. Evaluation of the resistance of IR64 upon inoculation of a set of African *Xoo* strains displaying diverse *talD* allelic variants.

Leaves of the rice varieties IR64 and Azucena were leaf-clip inoculated with the reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and a set of relevant African *Xoo* strains (Table S1). Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Statistical tests were realized under R software using the non-parametric test KRUSKAL-WALLIS and DUNN TEST.

Generation of RILs from the IR64 x Azucena Population	<i>Xoo</i> strains	Lesion lengths (cm) on		
		IR64	Azucena	RILs
F ₃	MAI1	0.8 ± 0.2	23.9 ± 4.9	0.2 to 36.2
	BAI3	5.4 ± 3.0	28.6 ± 5.9	1 to 40

Table 3. Lesion lengths induced by African *Xoo* on recombinant inbred lines of the F₃ generation and their parents.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

between IR64 and Azucena or Nipponbare, with 25% of nucleotide polymorphism, and the G1 promoter is the most conserved with only 1% of nucleotide polymorphism. Regarding the G3 and G4 promoters, 6% and 4% of nucleotide polymorphism is observed, respectively.

Discussion

In this study, using a high number of SNP markers in the IR64 genome (12,506 SNP markers) and analysing a F₁₁ and a F_{2:3} IR64 X Azucena populations, we were able to down size the previously identified QTL intervals of *qABB-7* and *qABB-11* (Djedatin *et al.* 2016), from 10 Mb to 300 kb, and from 1 Mb to 25 kb, respectively. Moreover, the LOD score of these QTLs were increased from 16 to 17.7 and from 5.7 to 7.2, for *qABB-7* (MAI1) and *qABB-11* (BAI3) respectively. The increase of LOD score values reinforces the reliability of the position of these QTLs, and having downsized their interval we can assume that the underlying resistance loci are very close to be discovered. Regarding the resistance loci revealed by MAI1, two new QTLs, *qABB-3a* and *qABB-4*, were identified in the IR64 parent in this study. Unfortunately, among the QTLs already reported by Djedatin *et al.* (2016), the one on chromosome 1 explaining 13.4% of the variance observed and with a LOD score of 5, was not found even if the threshold for the LOD score was lowered to 2. It is possible that the reduced number of SSR markers (226) used in this study, compared to the 12,506 SNP markers in ours, has led to the identification of a false positive.

In this work, shared, pathogen lineage-specific, but also novel QTLs of resistance to BLB were highlighted. Indeed, in previous work Djedatin *et al.* also reported the identification of *qBB-8* (Azucena donor) as effective against the Philippine *Xoo* strain PXO86, which co-localizes with *qABB-8*, the QTL that confers resistance to the African *Xoo* strain BAI3 on chromosome 8. In the same way, herein *qBB-9* that confers resistance to the Asian *Xoo* strain PXO99^A co-localizes with *qABB-9* (IR64 donor), a previously identified QTL effective against the African *Xoo* strain NAI8. Despite the fact that African *Xoo* strains are less studied than the Asian ones, and hence more resistance sources are known against the latter, our study sheds light on novel resistance sources against African *Xoo* that could also be efficient against Asian *Xoo*. These results are a significant step forward in the search for new resistance sources against African *Xoo*, and suggest that Asian and African *Xoo* share more than virulence targets, such as the *OsSWEET* genes, and induce some resistance mechanisms in common.

Among the TALEs of African *Xoo* used in this study, TalD originally thought to be monomorphic (Tran *et al.* 2018), appeared to be variable among some Malian strains with one identified polymorphic RVD (Doucouré *et al.* 2018), or simply missing as in strain BAI192 (Diallo *et al.*, in

Figure 6. Fine mapping of the QTL interval on chromosome 11.

(A) Leaves of seven F_{2:3} families: IR64 x Azucena population, selected to be recombinant in the interval of QTL on chromosome 11, and of the two control varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Below, the tables represent the genotype of the F₂ parents at each marker position of each QTL evidence by BAI3, *qABB-11*, *qABB-3b* and *qABB-8* for the seven families and the two control varieties IR64 and Azucena. Boxes in green with an "R" represent resistant alleles, in light red with an "S" represent susceptible alleles, and in yellow with an "H" represent heterozygous alleles. (B) a) Physical map of the interval of *qABB-11*, based on the reference genome of Nipponbare. Represented markers are not at equal distance in base pair from each other. b) Reduction of the physical distance of the QTL interval through the use of the F_{2:3} families recombinant with Azucena. c) Reduction of the physical distance of the QTL interval through the use of the F_{2:3} families recombinant with IR64. d) By intersecting the results obtained with the recombinant families with Azucena and these with IR64, the QTL interval is narrowed to 25 kb ranging from Mrk 3 to Mrk 6. e) Predicted genes (G1 to G4) laying in the 25 kb overlapped region in the Nipponbare genome.

prep). Recombination has been shown to be one of the most common pathways in the evolution of *tal* genes (Denancé et al., 2018; Erkes et al., 2017; Ruh et al., 2017), and since no data have been reported on the virulence activity of TalD to date, we hypothesize that this effector is conserved in *Xoo* to promote *tal* genetic diversity through recombination events. The common predicted targets between TalD of MAI1 and BAI3, and TalD of other Malian strains were evaluated among the 500 first targets found by Talvez software (Perez-Quintero et al. 2013) in the Nipponbare genome, and 80% of them are conserved. If it appears that the resistance conferred by TalD of MAI1 and BAI3 is activation domain (AD)-dependent and hence based on the induction of an *E* gene, it means that 20% of candidate genes in *qABB-11*, are specific to the TalD version of MAI1/BAI3. Based on this hypothesis, the list of candidate *E* genes in *qABB-11* could be drastically reduced.

In this study, through the use of F₁₁ and F_{2:3} IR64 x Azucena populations, QTLs of resistance were evidenced and their intervals reduced. Moreover, we have shown that TalD may be involved in the elicitation of some resistance responses implying *qABB-11* locus. We could therefore use the DNA-binding predictability of TALEs to identify a potential *E* gene in *qABB-11*, but also for *qABB-7*. Therefore, combining fine mapping with others approaches, as transcriptomics and bioinformatic EBE prediction programs to identify resistance genes would be interesting, as already done in the past. For example recently, Luo *et al.* combined fine mapping approach with RNA sequencing and gene editing approaches, leading to the isolation of the *E* gene *Xa7* (Luo et al. 2021).

Previous work by Djedatin et al. (2016), revealed that *qABB-11*, which is effective against the four African *Xoo* strains MAI1, BAI3, NAI8 and BAI4, partially overlaps with one QTL that confers resistance to the Asian *Xoo* strain PXO61, containing the known *R* gene *Xa4* (Djedatin et al., 2016). Through the screening of an IR24 x IRBB4 F₂ population with the *Xoo* strains PXO61 and BAI3, Djedatin et al. (2016) show that the potential gene promoting resistance against BAI3 is recessive, unlike *Xa4* which is dominant against PXO61, which would then clarify there are two different *R* genes in this QTL.

Previously we shown that two QTL, *qABB-11* and *qABB-3b*, are revealed by BAI3 in IR64. If there are some interactions between these two loci, the screening of the IR24 x IRBB4 population by Djedatin et al. would not have taken them into account because neither IR24 nor IRBB4 contains the resistance locus *qABB-3b*, explaining why the segregation ratio found for lines inoculated with BAI3 suggests the involvement of a recessive gene at the locus *qABB-11* (Djedatin et al., 2016). Nonetheless, the QTL interactions between *qABB-11* and *qABB-3b* are still unknown. With that in mind, the screening of an IR64 x Azucena F_{2:3} population with BAI3 seemed more appropriate to shed light on the potential interactions between these QTLs.

Regarding the experiment with the three F₁₁ lines used to evaluate the role of TalD in *qABB-11* resistance, the inoculation of the BAI3 Δ *talD* mutant complemented with *talD* upon the line 9010488 caused resistance. While the inoculation of the wild-type strain BAI3 on this same line, containing only the resistance QTL *qABB-11*, promoted disease. Herein when *talD* was over-expressed a dose effect was observed promoting resistance on this line. With that in mind, we assume that the resistance phenotype depending on *qABB-11*, is related to the amount of resistance allele, meaning that plants which are heterozygous at this QTL display an intermediate phenotype between the resistant and susceptible parent.

Regarding the four candidate genes in the 25 kb QTL interval on chromosome 11, the protein encoded by G1, an RNA recognition domain-containing protein, seems to be very different between the resistant and susceptible varieties, IR64 and Azucena or Nipponbare, respectively. Recently an RRM (RNA-recognition motif) protein was identified to promote rice resistance to blast disease, when associated with an NLR protein. When present together, these two proteins bind DNA and function as unconventional transcription factors at the promoters of the defense genes *OsWAK14* and *OsPAL1* (Zhai et al. 2019). Furthermore, in *Arabidopsis thaliana* a putative RNA binding protein was reported to positively regulate salicylic acid-mediated immunity through the inoculation of *P. syringae* pv. *tomato* (Qi et al. 2010). In this light, the G1 gene holds promise as a novel type of BLB resistance gene.

Conclusions & Perspectives

In this study we report the identification of shared, specific and novel resistance QTLs to African and Asian *Xoo* strains. Comparative analysis of the TALome in a diversity of African *Xoo* strains and phenotypic characterization allowed to correlate the resistance conferred by the QTL on chromosome 11, *qABB-11*, to the presence of TalD in BAI3. To go further, transcriptomic analyses of rice challenged with the wild-type strains MAI1 and BAI3, and with the mutant derivative strain BAI3 Δ *talD* transformed with an empty vector or complemented with *talD*, could be undertaken. These analyses would help to first, identify and confirm potential candidate executor genes in the QTL on chromosome 11, and on the other hand to evidence common and specific pathways of resistance in IR64 induced by MAI1 and BAI3.

Material and Methods

Bacterial strains and growth conditions

The *Xoo* strains used in this study are listed in the Table S1. *Xoo* strains were cultivated at 28°C on PSA medium (10 g peptone, 10 g sucrose, 1 g glutamic acid, 16 g agar, l⁻¹ H₂O). Rifampicin, kanamycin and gentamicin were added when appropriate to the medium at a final concentration of 100 µg.ml⁻¹ for each.

Mapping plant populations and growth conditions

The reference mapping population used to identify and map the BLB resistance QTLs consisted in 210 recombinant inbred lines (RILs) of F₁₁ generation from the cross between the *indica* cultivar IR64 (resistant parent) and the tropical *japonica* Azucena landrace (susceptible parent). This population derives from the IR64 x Azucena F₈ population developed by IRD (France), which was advanced to F₁₁ and used as one of the 10 sub-populations of a Nested Association Mapping (NAM) design (Fragoso et al., 2017). The second mapping population, used to reduce the size of the QTLs on chromosome 7 and 11, consisted in 542 F_{2:3} families resulting from an F₁ hybrid between IR64 and Azucena parents. All plant experiments were performed under greenhouse conditions under cycles of 12 h of light at 28°C and 80% relative humidity (RH) and 12 h of dark at 25°C and 70% RH.

Plant inoculations

Leaves of 5-week-old plants were inoculated by leaf-clipping with a bacterial suspension of an optical density at 600 nm (OD₆₀₀) of 0.2. At least three and eight plants of each line, and of IR64 and Azucena, respectively, were inoculated and lesion lengths were scored 15 days post inoculation (dpi). The experiments were reproduced three times with the mapping populations of F₁₁ and F₃ generation, and one time for the screening of African *Xoo* strains on IR64 and Azucena.

Statistical analysis

A genetic linkage map comprising 12,506 SNP markers and constructed from the IR64 x Azucena F₁₁ population was used for the mapping of resistance QTLs to *Xoo*. A preliminary QTL analysis was carried using analysis of variance (F-test), with marker genotypes as the factors, using MapDisto v. 2.1 software (Lorieux 2012). For subsequent QTL analyses, data files were prepared using the Export map and data function of MapDisto. Analyses of distribution of the phenotypic traits as well as QTL detection were performed using the Qgene v. 4.4.0 program (Nelson 2005, <http://www.qgene.org>) and QTL IciMapping v. 4.2 program (Meng et al., 2015). Different methods were compared such as Single-marker regression (SMR), Simple interval mapping (SIM), and

Inclusive Composite interval mapping (ICIM). For ICIM, a stepwise regression cofactor selection was used. The LOD score statistic was used for all methods in order to make the results comparable. Empirical thresholds to declare presence of a QTL were obtained using the resampling by permutation method, performing 10,000 (SMR) or 1,000 (ICIM) iterations for each trait/chromosome combination (log-likelihood of odds (LOD) score of 2.5).

References

- Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- Bossa-Castro AM, Tekete C, Raghavan C, et al (2018) Allelic variation for broad-spectrum resistance and susceptibility to bacterial pathogens identified in a rice MAGIC population. *Plant Biotechnol J* 16:1559–1568. <https://doi.org/10.1111/pbi.12895>
- Djedatin G, Ndjiondjop MN, Mathieu T, et al (2011) Evaluation of African cultivated rice *Oryza glaberrima* for resistance to bacterial blight. *Plant Dis* 95:441–447. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0558>
- Djedatin G, Ndjiondjop MN, Sanni A, et al (2016) Identification of novel major and minor QTLs associated with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (African strains) resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice* 9:. <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0090-9>
- Droc G, Dereeper A, Ruiz M, et al (2019) The south green rice genome hub.
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Huang S, Antony G, Li T, 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. <https://doi.org/10.1111/TPJ.13164>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Jiang N, Yan J, Liang Y, et al (2020) Resistance Genes and their Interactions with Bacterial Blight/Leaf Streak Pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in Rice (*Oryza sativa* L.)—an Updated Review. *Rice* 13:. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0358-y>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>

- Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Lorieux M (2012) MapDisto: Fast and efficient computation of genetic linkage maps. *Mol Breed* 30:1231–1235. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9706-y>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Mew TW (1992) Changes in Race Frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Response to Rice Cultivars Planted in the Philippines. *Plant Dis* 76:1029. <https://doi.org/10.1094/PD-76-1029>
- Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698. <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>
- Qi Y, Tsuda K, Joe A, et al (2010) A putative RNA-binding protein positively regulates salicylic acid-mediated immunity in *Arabidopsis*. *Mol Plant-Microbe Interact* 23:1573–1583. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-10-0106>
- Quibod IL, Atieza-Grande G, Oreiro EG, et al (2020) The Green Revolution shaped the population structure of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *ISME J* 14:492–505. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0545-2>
- Römer P, Recht S, Strauß T, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03217.X>
- Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>

- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Vera Cruz C, Leach JE (2012) Controlling rice bacterial blight in Africa: Needs and prospects. *J Biotechnol* 159:320–328. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.09.020>
- Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>
- Wonni I, Hutin M, Ouédraogo L, et al (2016) Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa. *Rice Res Open Access* 4:1–8. <https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Zhai K, Deng Y, Liang D, et al (2019) RRM Transcription Factors Interact with NLRs and Regulate Broad-Spectrum Blast Resistance in Rice. *Mol Cell* 74:996-1009.e7. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2019.03.013>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>

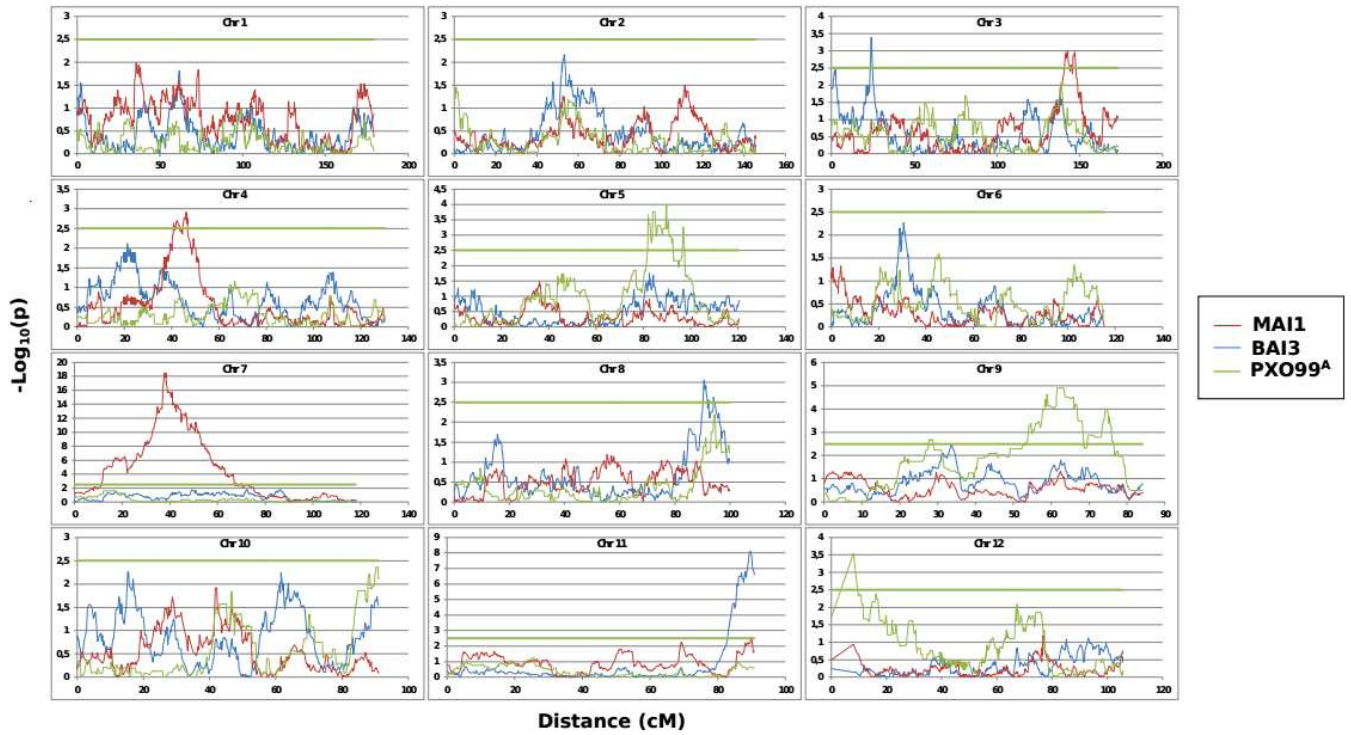


Figure S1. Graphic representation of the QTL peaks revealed by the inoculation of MAI1, BAI3 and PXO99^A.

Representation of the QTL peaks, for MAI1, BAI3 and PXO99^A *Xoo* strains, in $-\log_{10}(p)$ over the twelve chromosomes in centiMorgan (cM). The green line represents the threshold of 2.5 for QTL detection.

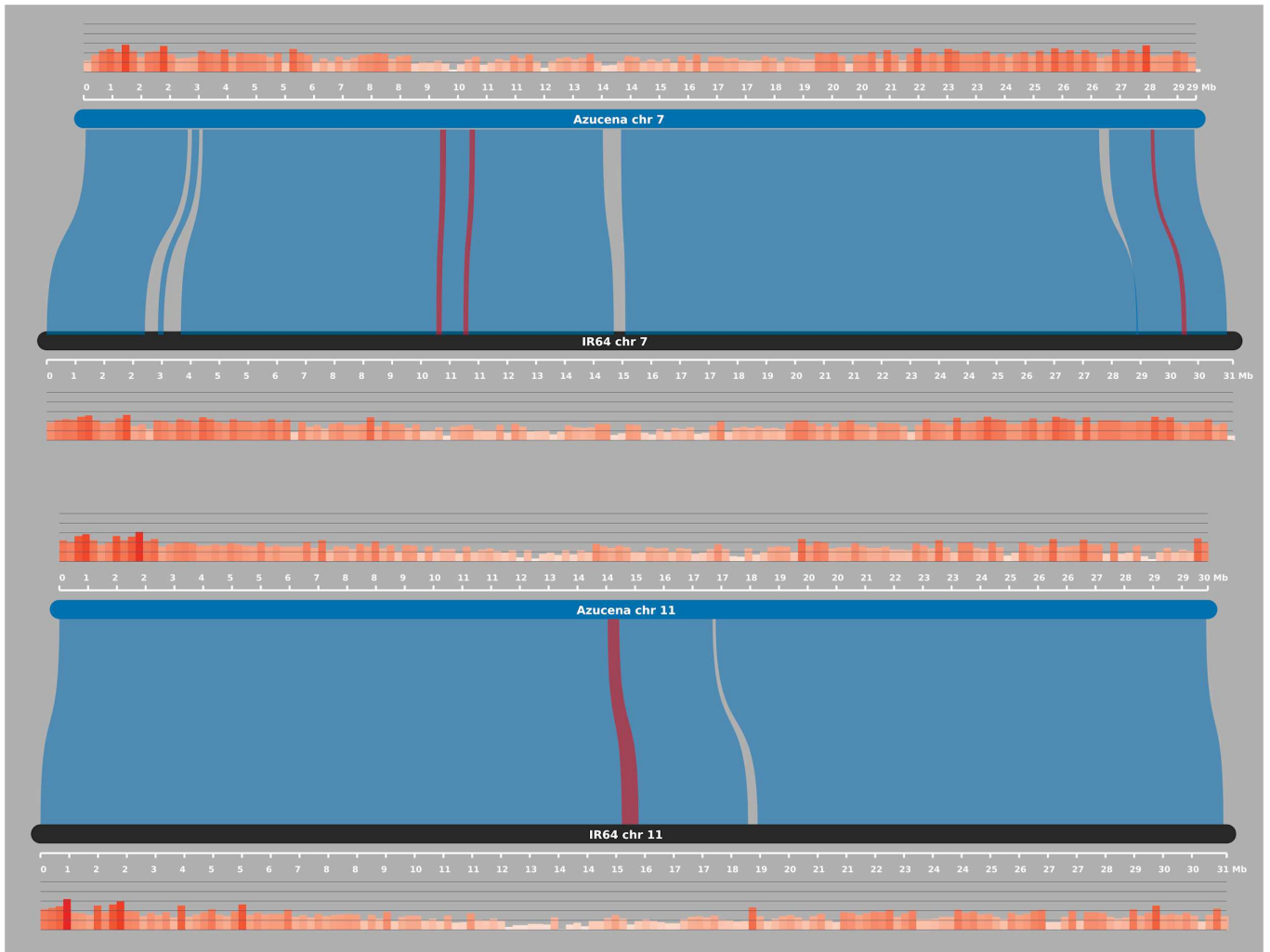


Figure S2. Synteny of chromosomes 7 and 11 between Azucena and IR64.

Synteny Viewer (Rice Genome Hub platform; Droc et al. 2019) was used to compare the synteny of the chromosomes a) 7 and b) 11, between the rice varieties IR64 and Azucena. The chromosomes in blue and grey represent the Azucena and IR64 chromosomes, respectively. Aligned regions in blue and red are regular and reversed regions, respectively. Scale and histogram bars above and below each chromosome represent the length in Mb and the gene density along the chromosome, respectively.

IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCADKDEGAASVLFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCADKDEGAASVLFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCADKDEGAASVLFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP *****	60 60 60	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	-MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT *****	59 56 56
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMNRKMLSGREISVAFVOTRKRPEE VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMNRKMLSGREISVAFVOTRKRPEE VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMNRKMLSGREISVAFVOTRKRPEE *****	120 120 120	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	SSPDSTGEPSSRVIIGSAIGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPDNDVGLPITLRRRRR SSPDSTGEPSSRVIIGSAIGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPDNDVGLPITLRRRRR SSPDSTGEPSSRVIIGSAIGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPDNDVGLPITLRRRRR *****	119 116 116
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRSYPKPKYKRDQYADIGRRLHLIVS MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRSYPKPKYKRDQYADIGRDETTPPAD MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRSYPKPKYKRDQYADIGRDETTPPAD *****	180 180 180	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	LLLDPLIRVTGLVAPGSPVPRWIGCQLACPSRRCIWCVESTSCRCRHRPPSPCSRLEAGK LLLDPLIRVTGLVAPGSPVPRWIGCQLACPSRRCIWCVESTSCRCRHRPPSPCSRLEAGK LLLDPLIRVTGLVAPGSPVPRWIGCQLACPSRRCIWCVESTSCRCRHRPPSPCSRLEAGK *****	179 155 155
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	D--PGLCAGHPGHLQGNLILAHVPIILFISMTLEHGHALLPQEGKMTSMLPRGRS SERPWALCRSPRSPGQSS-----HSRSYSRSHSLHLDH-----ARTRSCSPAGRQ SERPWALCRSPRSPGQSS-----HSRSYSRSHSLHLDH-----ARTRSCSPAGRQ *****	237 228 228	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	RKRERGG 186 ----- 155 ----- 155	
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	TKQN-----H-----QDR-QKDDMI CADPILLINIMNARMMLTMVLRHLRMLVSDPL DDQYASPORKEHQTKSSQGTGKDDHMRSSYTPYNECQDADN-G-----FDETPPAPDGRS DDQYASPORKEHQTKSSQGTGKDDHMRSSYTPYNECQDADN-G-----FDETPPAPDGRS *****	283 284 284	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDDDLTPFISRMLMEDDIDDKFFQY 60 MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDDDLTPFISRMLMEDDIDDKFFQY 60 MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDDDLTPFISRMLMEDDIDDKFFQY 60 *****	60 60 60
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	CMAGHPGHLQDGLIVIHVPLNLSVAMLDHGHALLPQEGKITS--LLPHRE-GRSTK SVLGRSPRSPGGRSHCHSHSRSPELRGHARSRS CSPATGRQDNQSTSPORREKHQTK SVLGRSPRSPGGRSHCHSHSRSPELRGHARSRS CSPATGRQDNQSTSPORREKHQTK *****	340 344 344	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTELS 120 FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTELS 120 FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTELS 120 *****	120 120 120
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	QNHQDRK-NMMSADPTLLNIMI--AGMLTMVIMRRRRLMVDSPGHAG-HPSHLOD SSGQAKEHDEKRSSYTPENYDRDADNGYD-----TPPAPDGRSWSALGRSPSPSP SSGQAKEHDEKRSSYTPENYDRDADNGYD-----TPPAPDGRSWSALGRSPSPSP *****	396 397 397	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP 180 QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP 180 QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP 180 *****	180 180 180
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	GLIFIHT---RVALLNSVAILDLGHALLPPEKEMTSMPLPHERRSKONHDLR--- GRSHFHSRHSRSPDELGRAR---SRSCSPAGRQDDQYASPORKEEQTKSSROTKE GRSHFHSRHSRSPDELGRAR---SRSCSPAGRQDDQYASPORKEEQTKSSROTKE *****	449 453 453	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV 240 TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV 240 TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV 240 *****	240 240 240
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	-KNMRSDEPALLNIAIIVMLSSVMMKQTPSAEWGSKLGTVOVINTAASN HDEERRSCTPEYSDR---RDAFIGHDETPPSAEWGSKLTVOVINTAASN HDEERRSCTPEYSDR---RDAFIGHDETPPSAEWGSKLTVOVINTAASN *****	501 502 502	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDEAEKARNGGGAGRAARAAGAV 300 PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDEAEKARNGGGAGRAARAAGAV 300 PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDEAEKARNGGGAGRAARAAGAV 300 *****	300 300 300
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	MKPSPAANLDVREPRPPVPHRPGSLRARPYYRWTPIWAAIALSCVWVFLVSMYV 60 MKPSPAANLDVREPRPPVPHRPGSLRARPYYRWTPIWAAIALSCVWVFLVSMYV 60 MKPSPAANLDVREPRPPVPHRPGSLRARPYYRWTPIWAAIALSCVWVFLVSMYV 60 *****	60 60 60	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLACTGS 360 VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLACTGS 360 VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLACTGS 360 *****	360 360 360
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	NDCPRNSGDCAAAGLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQWRLLTC 120 NDCPRNSGDCAAAGLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQWRLLTC 120 NDCPRNSGDCAAAGLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQWRLLTC 120 *****	120 120 120	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY 420 QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY 420 QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY 420 *****	420 420 420
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQDFGVRIGLVYLSLGGSLMSALFIRSSISVGA 180 IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQDFGVRIGLVYLSLGGSLMSALFIRSSISVGA 180 IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQDFGVRIGLVYLSLGGSLMSALFIRSSISVGA 180 *****	180 180 180	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	GFQWPGLFKCLSEREGGPEVRITGIDFPQGFPRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPFRFQ 480 GFQWPGLFKCLSEREGGPEVRITGIDFPQGFPRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPFRFQ 480 GFQWPGLFKCLSEREGGPEVRITGIDFPQGFPRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPFRFQ 480 *****	480 480 480
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG 240 SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG 240 SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG 240 *****	240 240 240	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	AIAAKWETVRREDLHLDREEE--EGEEVLVNCLHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI 538 AIAAKWETVRREDLHLDREEEEEEVVLVNCVHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI 540 AIAAKWETVRREDLHLDREEEEEEVVLVNCVHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI 540 *****	538 540 540
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	FLLGFVNFIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL 300 FLLGFVNFIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL 300 FLLGFVNFIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL 300 *****	300 300 300	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETLLFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG 598 RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETLLFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG 600 RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETLLFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG 600 *****	598 600 600
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLVADA 360 LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLVADA 360 LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLVADA 360 *****	360 360 360	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	RCALNVIAECGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVELVDRKVKKLYHKDFVI 658 RWALNVIAECGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVELVDRKVKKLYHKDFVI 660 RWALNVIAECGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVELVDRKVKKLYHKDFVI 660 *****	658 660 660
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	TQDKINQLCNQLCS 374 TQDKINQLCNQLCS 374 TQDKINQLCNQLCS 374 *****	374 374 374	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKSLF 690 DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKSLF 692 DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKSLF 692 *****	690 692 692

Figure S3. Amino-acid alignment of the four candidate genes in the overlapped region.

Amino-acid alignment of the four candidate genes between the rice genomes of IR64, Azucena and Nipponbare varieties was realized under Clustal Omega platform (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Dashe significates a missing amino-acid, "*" indicates that the amino-acid is conserved, "." indicates that the amino-acids differ and belong to a group with weak similarity, and ":" indicates that the amino-acids differ but belong to a group with strong biochemical similarity. The criterion for distinguishing strong from weak similarities is as follows: strong similarity corresponds to a Gonnet PAM250 MATRIX score between amino acids of greater than 0.5, while weak similarity corresponds to a score of 0.5 or less.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>			
PXO99 ^A	Philippines strain		Adam Bogdanove Laboratory
MAI1	Malian strain	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3	Burkinabe strain	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3 Δ <i>talD</i> (EV)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	(Lachaux et al. submitted)
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i>)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	(Lachaux et al. submitted)
BAI192	Burkinabe strain		Diallo et al., in prep
MAI73	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI95	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI68	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI145	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI106	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI99	Malian strain		Doucouré et al., 2018
Plasmids			
pSKX1			Streubel et al., 2013

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

Strains highlighted in bold were only inoculated on the rice varieties IR64 and Azucena.

	Chromosome	ID_IR64	Name/function
1	7	<i>OsIR64_07g008410</i>	SurE domain-containing protein
2	7	<i>OsIR64_07g008420</i>	Conserved hypothetical protein
3	7	<i>OsIR64_07g008430</i>	expressed protein
4	7	<i>OsIR64_07g008440</i>	Zeta-carotene desaturase
5	7	<i>OsIR64_07g008450</i>	cytochrome b-c1 complex subunit 7 Putative expressed
6	7	<i>OsIR64_07g008460</i>	WD_REPEATS_REGION domain-containing protein
7	7	<i>OsIR64_07g008470</i>	Os07g0205500 protein
8	7	<i>OsIR64_07g008480</i>	expressed protein
9	7	<i>OsIR64_07g008490</i>	Os07g0205700 protein
10	7	<i>OsIR64_07g008500</i>	Cyclin-like protein
11	7	<i>OsIR64_07g008510</i>	expressed protein
12	7	<i>OsIR64_07g008520</i>	Putative 13 kDa prolamin C
13	7	<i>OsIR64_07g008530</i>	Os07g0206600 protein
14	7	<i>OsIR64_07g008540</i>	Methyltransferase
15	7	<i>OsIR64_07g008550</i>	Os07g0206800 protein
16	7	<i>OsIR64_07g008560</i>	expressed protein
17	7	<i>OsIR64_07g008570</i>	Protein kinase domain-containing protein
18	7	<i>OsIR64_07g008580</i>	Conserved hypothetical protein
19	7	<i>OsIR64_07g008590</i>	Conserved hypothetical

	Chromosome	ID_Azucena	Name/function
1	7	<i>OsAzucena07g009950</i>	SurE domain-containing protein
2	7	<i>OsAzucena07g009960</i>	Putative transposable element
3	7	<i>OsAzucena07g009970</i>	Hypothetical protein
4	7	<i>OsAzucena07g009980</i>	Zeta-carotene desaturase
5	7	<i>OsAzucena07g009990</i>	expressed protein
6	7	<i>OsAzucena07g010000</i>	Putative Cytochrome b-c1 complex subunit 7
7	7	<i>OsAzucena07g010010</i>	expressed protein
8	7	<i>OsAzucena07g010020</i>	cDNA clone:J013072E21 full insert sequence
9	7	<i>OsAzucena07g010030</i>	Os07g0205500 protein
10	7	<i>OsAzucena07g010040</i>	expressed protein
11	7	<i>OsAzucena07g010050</i>	Os07g0205700 protein
12	7	<i>OsAzucena07g010060</i>	NA
13	7	<i>OsAzucena07g010070</i>	Cyclin-like protein
14	7	<i>OsAzucena07g010080</i>	expressed protein
15	7	<i>OsAzucena07g010090</i>	13 kDa prolamin C
16	7	<i>OsAzucena07g010100</i>	13 kDa prolamin C
17	7	<i>OsAzucena07g010110</i>	Os07g0206600 protein
18	7	<i>OsAzucena07g010120</i>	Methyltransferase
19	7	<i>OsAzucena07g010130</i>	Os07g0206800 protein

			protein
20	7	<i>OsIR64_07g008600</i>	S5 DRBM domain-containing protein
21	7	<i>OsIR64_07g008610</i>	Putative Polygalacturonase
22	7	<i>OsIR64_07g008620</i>	40S ribosomal protein S15a-1
23	7	<i>OsIR64_07g008630</i>	Putative Polygalacturonase
24	7	<i>OsIR64_07g008640</i>	Cellulose synthase
25	7	<i>OsIR64_07g008650</i>	Remorin_C domain-containing protein
26	7	<i>OsIR64_07g008660</i>	expressed protein
27	7	<i>OsIR64_07g008670</i>	Putative Myosin-like protein
28	7	<i>OsIR64_07g008680</i>	MFS domain-containing protein
29	7	<i>OsIR64_07g008690</i>	Dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycosyltransferase 48 kDa subunit
30	7	<i>OsIR64_07g008700</i>	Os07g0209100 protein
31	7	<i>OsIR64_07g008710</i>	Conserved hypothetical protein
32	7	<i>OsIR64_07g008720</i>	Conserved hypothetical protein
33	7	<i>OsIR64_07g008730</i>	expressed protein
34	7	<i>OsIR64_07g008740</i>	Putative helicase conserved C-terminal domain containing protein expressed

20	7	<i>OsAzucena07g010140</i>	expressed protein
21	7	<i>OsAzucena07g010150</i>	Os07g0207100 protein (Fragment)
22	7	<i>OsAzucena07g010160</i>	Conserved hypothetical protein
23	7	<i>OsAzucena07g010170</i>	NA
24	7	<i>OsAzucena07g010180</i>	Conserved hypothetical protein
25	7	<i>OsAzucena07g010190</i>	S5 DRBM domain-containing protein
26	7	<i>OsAzucena07g010200</i>	expressed protein
27	7	<i>OsAzucena07g010210</i>	Polygalacturonase
28	7	<i>OsAzucena07g010220</i>	CTD phosphatase-like protein
29	7	<i>OsAzucena07g010230</i>	Polygalacturonase
30	7	<i>OsAzucena07g010240</i>	Os07g0207900 protein
31	7	<i>OsAzucena07g010250</i>	40S ribosomal protein S15a-1
32	7	<i>OsAzucena07g010260</i>	Os07g0208100 protein (Fragment)
33	7	<i>OsAzucena07g010270</i>	Os07g0208200 protein
34	7	<i>OsAzucena07g010280</i>	NAM-associated domain-containing protein

35	7	<i>OsIR64_07g008750</i>	Putative Fe(2+) transport protein 1
36	7	<i>OsIR64_07g008760</i>	C2H2-type domain-containing protein
37	7	<i>OsIR64_07g008770</i>	expressed protein
38	7	<i>OsIR64_07g008780</i>	BZIP domain-containing protein
39	7	<i>OsIR64_07g008790</i>	Exocyst subunit Exo70 family protein
1	11	<i>OsIR64_11g032370</i>	Putative Disease resistance

35	7	<i>OsAzucena07g010290</i>	Cellulose synthase
36	7	<i>OsAzucena07g010300</i>	DNA binding protein-like
37	7	<i>OsAzucena07g010310</i>	NA
38	7	<i>OsAzucena07g010320</i>	expressed protein
39	7	<i>OsAzucena07g010330</i>	expressed protein
40	7	<i>OsAzucena07g010340</i>	Myosin-like protein
41	7	<i>OsAzucena07g010350</i>	MFS domain-containing protein
42	7	<i>OsAzucena07g010360</i>	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit
43	7	<i>OsAzucena07g010370</i>	Os07g0209100 protein
44	7	<i>OsAzucena07g010380</i>	NA
45	7	<i>OsAzucena07g010390</i>	Putative expressed protein
46	7	<i>OsAzucena07g010400</i>	NA
47	7	<i>OsAzucena07g010410</i>	NA
48	7	<i>OsAzucena07g010420</i>	expressed protein
49	7	<i>OsAzucena07g010430</i>	NA
50	7	<i>OsAzucena07g010440</i>	ZOS7-03 - C2H2 zinc finger protein expressed
51	7	<i>OsAzucena07g010450</i>	expressed protein
52	7	<i>OsAzucena07g010460</i>	Os07g0209800 protein
1	11	<i>OsAzucena11g043300</i>	Putative Disease resistance

			protein RGA5
2	11	<i>OsIR64_11g032380</i>	NB-ARC domain containing protein
3	11	<i>OsIR64_11g032390</i>	Putative VWFA domain-containing protein
4	11	<i>OsIR64_11g032400</i>	Disease resistance protein Pik-1
5	11	<i>OsIR64_11g032410</i>	Disease resistance protein Piks-2
6	11	<i>OsIR64_11g032420</i>	tetratricopeptide repeat domain containing protein expressed
7	11	<i>OsIR64_11g032430</i>	Putative DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 46
8	11	<i>OsIR64_11g032440</i>	Expressed protein
9	11	<i>OsIR64_11g032450</i>	NA
10	11	<i>OsIR64_11g032460</i>	rfam_acc=RF00885
11	11	<i>OsIR64_11g032470</i>	Protein kinase
12	11	<i>OsIR64_11g032480</i>	GUB_WAK_bind domain-containing protein
13	11	<i>OsIR64_11g032490</i>	Protein kinase domain-containing protein
14	11	<i>OsIR64_11g032500</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
15	11	<i>OsIR64_11g032510</i>	Protein kinase domain-containing protein

			protein RGA5
2	11	<i>OsAzucena11g043310</i>	NA
3	11	<i>OsAzucena11g043320</i>	NB-ARC domain-containing protein
4	11	<i>OsAzucena11g043330</i>	expressed protein
5	11	<i>OsAzucena11g043340</i>	rfam_acc=RF00885
6	11	<i>OsAzucena11g043350</i>	Transposon protein Putative CACTAEn/Spm sub-class
7	11	<i>OsAzucena11g043360</i>	NA
8	11	<i>OsAzucena11g043370</i>	NA
9	11	<i>OsAzucena11g043380</i>	NA
10	11	<i>OsAzucena11g043390</i>	Disease resistance protein PIK5-NP
11	11	<i>OsAzucena11g043400</i>	Disease resistance protein PIK5-NP
12	11	<i>OsAzucena11g043410</i>	Conserved hypothetical protein
13	11	<i>OsAzucena11g043420</i>	tetratricopeptide repeat domain containing protein expressed
14	11	<i>OsAzucena11g043430</i>	Os11g0689400 protein
15	11	<i>OsAzucena11g043440</i>	Expressed protein

16	11	<i>OsIR64_11g032520</i>	Protein kinase domain-containing protein
17	11	<i>OsIR64_11g032530</i>	Conserved hypothetical protein
18	11	<i>OsIR64_11g032540</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 5
19	11	<i>OsIR64_11g032550</i>	Conserved hypothetical protein
20	11	<i>OsIR64_11g032560</i>	Major disease resistance protein Xa4
21	11	<i>OsIR64_11g032570</i>	Protein kinase domain-containing protein
22	11	<i>OsIR64_11g032580</i>	rfam_acc=RF00886
23	11	<i>OsIR64_11g032590</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
24	11	<i>OsIR64_11g032600</i>	expressed protein
25	11	<i>OsIR64_11g032610</i>	Protein kinase domain-containing protein
26	11	<i>OsIR64_11g032620</i>	Protein kinase domain-containing protein
27	11	<i>OsIR64_11g032630</i>	Receptor kinase TRKc
28	11	<i>OsIR64_11g032640</i>	Protein kinase domain-containing protein
29	11	<i>OsIR64_11g032650</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570

16	11	<i>OsAzucena11g043450</i>	NA
17	11	<i>OsAzucena11g043460</i>	expressed protein
18	11	<i>OsAzucena11g043470</i>	rfam_acc=RF01902
19	11	<i>OsAzucena11g043480</i>	rfam_acc=RF01902
20	11	<i>OsAzucena11g043490</i>	Protein kinase domain-containing protein
21	11	<i>OsAzucena11g043500</i>	Protein kinase domain-containing protein
22	11	<i>OsAzucena11g043510</i>	NA
23	11	<i>OsAzucena11g043520</i>	Putative expressed protein
24	11	<i>OsAzucena11g043530</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
25	11	<i>OsAzucena11g043540</i>	Putative wall-associated receptor kinase-like 16
26	11	<i>OsAzucena11g043550</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
27	11	<i>OsAzucena11g043560</i>	Protein kinase domain-containing protein
28	11	<i>OsAzucena11g043570</i>	Transposon protein Putative CACTAEn/Spm sub-class
29	11	<i>OsAzucena11g043580</i>	NA

30	11	<i>OsIR64_11g032660</i>	RRM_8 domain-containing protein
31	11	<i>OsIR64_11g032670</i>	Putative Receptor kinase-like protein Xa21
32	11	<i>OsIR64_11g032680</i>	Protein kinase domain-containing protein
33	11	<i>OsIR64_11g032690</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase EFR
34	11	<i>OsIR64_11g032700</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
35	11	<i>OsIR64_11g032710</i>	Receptor kinase TRKc
36	11	<i>OsIR64_11g032720</i>	Expressed protein
37	11	<i>OsIR64_11g032730</i>	ATP-citrate synthase alpha chain protein 2
38	11	<i>OsIR64_11g032740</i>	Fn3_like domain-containing protein
39	11	<i>OsIR64_11g032750</i>	Putative Disease resistance protein RGA5
40	11	<i>OsIR64_11g032760</i>	Conserved hypothetical protein
41	11	<i>OsIR64_11g032770</i>	Conserved hypothetical protein
42	11	<i>OsIR64_11g032780</i>	stripe rust resistance protein Yr10 Putative expressed
43	11	<i>OsIR64_11g032790</i>	expressed protein

30	11	<i>OsAzucena11g043590</i>	rfam_acc=RF00885
31	11	<i>OsAzucena11g043600</i>	NA
32	11	<i>OsAzucena11g043610</i>	Putative Probably inactive leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At3g28040
33	11	<i>OsAzucena11g043620</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
34	11	<i>OsAzucena11g043630</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
35	11	<i>OsAzucena11g043640</i>	Os11g0695800 protein (Fragment)
36	11	<i>OsAzucena11g043650</i>	Transposable element protein Putative MuDR
37	11	<i>OsAzucena11g043660</i>	Expressed protein
38	11	<i>OsAzucena11g043670</i>	NA
39	11	<i>OsAzucena11g043680</i>	NA
40	11	<i>OsAzucena11g043690</i>	ATP-citrate synthase alpha chain protein 2
41	11	<i>OsAzucena11g043700</i>	Fn3_like domain-containing protein
42	11	<i>OsAzucena11g043710</i>	cDNA clone:J033001C17%2C full insert sequence
43	11	<i>OsAzucena11g043720</i>	NA

44	11	<i>OsIR64_11g032800</i>	Protein kinase
45	11	<i>OsIR64_11g032810</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
46	11	<i>OsIR64_11g032820</i>	Myb-related protein MYBAS1
47	11	<i>OsIR64_11g032830</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
48	11	<i>OsIR64_11g032840</i>	Conserved hypothetical protein
49	11	<i>OsIR64_11g032850</i>	Putative H0103C06.4 protein
50	11	<i>OsIR64_11g032860</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
51	11	<i>OsIR64_11g032870</i>	Xylanase inhibitor protein 2
52	11	<i>OsIR64_11g032880</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
53	11	<i>OsIR64_11g032890</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
54	11	<i>OsIR64_11g032900</i>	Putative Xylanase inhibitor protein 1
55	11	<i>OsIR64_11g032910</i>	Putative Xylanase inhibitor protein 1
56	11	<i>OsIR64_11g032920</i>	Putative Zinc finger protein ZAT8
57	11	<i>OsIR64_11g032930</i>	PAP_central domain-containing protein
58	11	<i>OsIR64_11g032940</i>	Putative DDE Tnp4 domain-containing protein
59	11	<i>OsIR64_11g032950</i>	Putative expressed protein

44	11	<i>OsAzucena11g043730</i>	Laccase-21
45	11	<i>OsAzucena11g043740</i>	NA
46	11	<i>OsAzucena11g043750</i>	OSJNBa0053K19.15 protein
47	11	<i>OsAzucena11g043760</i>	Rep_fac-A_C domain-containing protein
48	11	<i>OsAzucena11g043770</i>	ATP-dependent DNA helicase
49	11	<i>OsAzucena11g043780</i>	expressed protein
50	11	<i>OsAzucena11g043790</i>	zinc knuckle family protein expressed
51	11	<i>OsAzucena11g043800</i>	Putative Ulp1 protease-like protein
52	11	<i>OsAzucena11g043810</i>	NA
53	11	<i>OsAzucena11g043820</i>	NA
54	11	<i>OsAzucena11g043830</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
55	11	<i>OsAzucena11g043840</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
56	11	<i>OsAzucena11g043850</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
57	11	<i>OsAzucena11g043860</i>	Putative ULP_PROTEASE domain-containing protein
58	11	<i>OsAzucena11g043870</i>	NA
59	11	<i>OsAzucena11g043880</i>	Conserved hypothetical

60	11	<i>OsIR64_11g032960</i>	Putative Osmotin-like protein
61	11	<i>OsIR64_11g032970</i>	RING-type domain-containing protein
62	11	<i>OsIR64_11g032980</i>	RING-type domain-containing protein
63	11	<i>OsIR64_11g032990</i>	Vacuolar protein sorting-associated protein 2 homolog 1
64	11	<i>OsIR64_11g033000</i>	Conserved hypothetical protein
65	11	<i>OsIR64_11g033010</i>	Expressed protein
66	11	<i>OsIR64_11g033020</i>	Neprosin_AP domain-containing protein
67	11	<i>OsIR64_11g033030</i>	Heat shock cognate 70 kDa
68	11	<i>OsIR64_11g033040</i>	NA
69	11	<i>OsIR64_11g033050</i>	rfam_acc=RF00133
70	11	<i>OsIR64_11g033060</i>	NA
71	11	<i>OsIR64_11g033070</i>	Heat shock cognate 70 kDa protein
72	11	<i>OsIR64_11g033080</i>	Os11g0704000 protein
73	11	<i>OsIR64_11g033090</i>	NB-ARC domain containing protein
74	11	<i>OsIR64_11g033100</i>	expressed protein
75	11	<i>OsIR64_11g033110</i>	OBG-type G domain-containing protein

			protein
60	11	<i>OsAzucena11g043890</i>	NA
61	11	<i>OsAzucena11g043900</i>	expressed protein
62	11	<i>OsAzucena11g043910</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
63	11	<i>OsAzucena11g043920</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
64	11	<i>OsAzucena11g043930</i>	Retrotransposon protein Putative Ty3-gypsy subclass
65	11	<i>OsAzucena11g043940</i>	Putative Disease resistance protein PIK6-NP
66	11	<i>OsAzucena11g043950</i>	Putative Disease resistance protein PIK6-NP
67	11	<i>OsAzucena11g043960</i>	Retrotransposon protein Putative unclassified
68	11	<i>OsAzucena11g043970</i>	NA
69	11	<i>OsAzucena11g043980</i>	Putative OSJNBa0043L09.11 protein
70	11	<i>OsAzucena11g043990</i>	rfam_acc=RF00885
71	11	<i>OsAzucena11g044000</i>	rfam_acc=RF00885
72	11	<i>OsAzucena11g044010</i>	expressed protein
73	11	<i>OsAzucena11g044020</i>	Myb-related protein MYBAS1
74	11	<i>OsAzucena11g044030</i>	expressed protein
75	11	<i>OsAzucena11g044040</i>	Protein kinase domain-containing protein

76	11	<i>OsIR64_11g033120</i>	anti_codon=CTT
77	11	<i>OsIR64_11g033130</i>	Putative Metallothionein-like protein 1A
78	11	<i>OsIR64_11g033140</i>	X8 domain-containing protein
79	11	<i>OsIR64_11g033150</i>	RRM domain-containing protein
80	11	<i>OsIR64_11g033160</i>	RHOMBOID-like protein
81	11	<i>OsIR64_11g033170</i>	expressed protein
82	11	<i>OsIR64_11g033180</i>	GRAS domain-containing protein
83	11	<i>OsIR64_11g033190</i>	Putative Os11g0631825 protein
84	11	<i>OsIR64_11g033200</i>	Conserved hypothetical protein
85	11	<i>OsIR64_11g033210</i>	Conserved hypothetical protein
86	11	<i>OsIR64_11g033220</i>	Conserved hypothetical protein
87	11	<i>OsIR64_11g033230</i>	Conserved hypothetical protein
88	11	<i>OsIR64_11g033240</i>	Conserved hypothetical protein
89	11	<i>OsIR64_11g033250</i>	Expressed protein
90	11	<i>OsIR64_11g033260</i>	Expressed protein
91	11	<i>OsIR64_11g033270</i>	Thaumatococcus-like protein
92	11	<i>OsIR64_11g033280</i>	CYCLIN domain-containing protein

76	11	<i>OsAzucena11g044050</i>	NA
77	11	<i>OsAzucena11g044060</i>	Chitinase
78	11	<i>OsAzucena11g044070</i>	Glycosyl hydrolases family 18
79	11	<i>OsAzucena11g044080</i>	Xylanase inhibitor protein 2
80	11	<i>OsAzucena11g044090</i>	Chitinase
81	11	<i>OsAzucena11g044100</i>	Chitinase
82	11	<i>OsAzucena11g044110</i>	Glycosyl hydrolases family 18
83	11	<i>OsAzucena11g044120</i>	Glycosyl hydrolases family 18
84	11	<i>OsAzucena11g044130</i>	expressed protein
85	11	<i>OsAzucena11g044140</i>	Xylanase inhibitor protein 1
86	11	<i>OsAzucena11g044150</i>	Chitinase III C10701-rice
87	11	<i>OsAzucena11g044160</i>	Chitinase III C10701-rice
88	11	<i>OsAzucena11g044170</i>	Chitinase III C10701-rice
89	11	<i>OsAzucena11g044180</i>	ZOS11-09 - C2H2 zinc finger protein expressed
90	11	<i>OsAzucena11g044190</i>	C2H2 type zinc finger transcription factor ZFP17
91	11	<i>OsAzucena11g044200</i>	Expressed protein
92	11	<i>OsAzucena11g044210</i>	DDE Tnp4 domain-containing protein

93	11	<i>OsIR64_11g033290</i>	Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase chloroplastic
94	11	<i>OsIR64_11g033300</i>	Os11g0707050 protein
95	11	<i>OsIR64_11g033310</i>	Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase chloroplastic
96	11	<i>OsIR64_11g033320</i>	expressed protein
97	11	<i>OsIR64_11g033330</i>	Chain A Nmr Structure Of The Single Qalggh Zinc Finger Domain From Arabidopsis Thaliana Superman Protein
98	11	<i>OsIR64_11g033340</i>	Putative expressed protein
99	11	<i>OsIR64_11g033350</i>	Very-long-chain aldehyde decarbonylase GL1-11
100	11	<i>OsIR64_11g033360</i>	Os11g0707700 protein
101	11	<i>OsIR64_11g033370</i>	Mitochondrial uncoupling protein 1
102	11	<i>OsIR64_11g033380</i>	expressed protein
103	11	<i>OsIR64_11g033390</i>	Laccase-22
104	11	<i>OsIR64_11g033400</i>	Putative expressed protein
105	11	<i>OsIR64_11g033410</i>	Conserved hypothetical protein
106	11	<i>OsIR64_11g033420</i>	GDSL esterase/lipase

93	11	<i>OsAzucena11g044220</i>	OSJNBa0023J03.3 protein
94	11	<i>OsAzucena11g044230</i>	F-box domain-containing protein
95	11	<i>OsAzucena11g044240</i>	Os11g0703000 protein
96	11	<i>OsAzucena11g044250</i>	thaumatin family domain containing protein expressed
97	11	<i>OsAzucena11g044260</i>	RING-type domain-containing protein
98	11	<i>OsAzucena11g044270</i>	RING-type domain-containing protein
99	11	<i>OsAzucena11g044280</i>	Vacuolar protein sorting-associated protein 2 homolog 1
100	11	<i>OsAzucena11g044290</i>	Expressed protein
101	11	<i>OsAzucena11g044300</i>	Neprosin_AP domain-containing protein
102	11	<i>OsAzucena11g044310</i>	expressed protein
103	11	<i>OsAzucena11g044320</i>	Heat shock cognate 70 kDa
104	11	<i>OsAzucena11g044330</i>	NA
105	11	<i>OsAzucena11g044340</i>	rfam_acc=RF00133
106	11	<i>OsAzucena11g044350</i>	NA

Chapitre 3 : Utilisation d'une approche de RNA-seq pour identifier des gènes exécuteurs candidats contre les souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Contexte

De précédentes études menées par l'équipe sur les souches Africaines de *Xoo* (Gonzalez et al. 2007; Djedatin et al. 2011) ont montré que ces dernières diffèrent des souches Asiatiques par de nombreux traits, et notamment qu'elles induisent des résistances qui leur sont spécifiques. A ce jour, seulement quatre gènes de résistance de type exécuteur (*E*) induits par *Xoo* ont été identifiés chez le riz. Il s'agit de *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*. Les TALE correspondants AvrXa7, AvrXa10, AvrXa23 et AvrXa27 n'ont jamais été détectés chez les souches Africaines.

Dans les chapitres précédents deux TALE d'avirulence, dont TalD, ont été identifiés chez les souches de *Xoo* MAI1 et BAI3 pour promouvoir la résistance sur des variétés de riz, dont la variété IR64 qui est séquencée et pour laquelle une population de lignées recombinantes était disponible. Les analyses de cartographie menées dans le chapitre 2 ont permis de mettre en avant cinq QTL impliqués dans la résistance à ces deux souches. Par ailleurs, un lien entre le TALE d'avirulence TalD et le QTL identifié sur le chromosome 11 a pu être établi. Fort des résultats acquis par une approche de génétique et, considérant la capacité des TALE à induire leurs gènes cibles, nous nous sommes ensuite tournés vers une approche de RNAseq. Cette approche a pour but d'identifier les gènes différentiellement régulés en condition de résistance chez IR64 et de pouvoir ainsi croiser ces résultats avec ceux obtenus dans le chapitre 2 pour identifier de nouveaux gènes de résistance aux souches Africaines de *Xoo* chez IR64.

Matériels & Méthodes

Pour tester si la résistance médiée par TalD chez IR64 provenait de l'induction d'un gène exécuteur, nous avons dans un premier temps testé si le domaine d'activation de la transcription de ce TALE était nécessaire à son activité d'avirulence en le supprimant.

Basé sur la capacité des effecteurs TAL à se fixer au promoteur de leur gènes cibles et à les sur-exprimer, nous avons entrepris une analyse de transcriptomique sur la variété résistante IR64 et la variété sensible Nipponbare, afin d'identifier de potentiels gènes exécuteurs répondant à l'inoculation de MAI1 et BAI3 sur IR64. En plus des deux souches sauvages, la souche mutante BAI3 Δ talD portant soit un vecteur vide (EV), soit complétée avec *talD* (*ptalD*), ont été utilisées pour identifier spécifiquement les gènes exécuteurs candidats induits par cet effecteur.

Résultats & Conclusions

Dans cette étude, les résultats ont démontré que le domaine d'activation de TalD, facteur d'avirulence conservé chez les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, est nécessaire pour promouvoir la résistance chez IR64. Les résultats d'expressions différentielles combinés aux analyses de prédiction de cibles *in silico* pour TalD ont permis l'identification de plusieurs gènes exécuteurs candidats.

Perspectives

Afin de confirmer le rôle des gènes candidats dans la résistance de IR64 face aux souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, des TALE artificiels seront générés pour cibler le promoteur de ces derniers. Ils seront transformés dans une souche de *Xoo* virulente sur IR64 afin d'observer si l'induction d'un des gènes candidats permet d'observer un gain d'avirulence. Suite à cela, si certains des gènes candidats sont validés, la génération de plantes éditées dans l'EBE ou dans la séquence codante du gène et la transformation de plantes sensibles avec le gène candidat et son promoteur, seront entreprises.

Implication personnelle

L'inoculation des souches bactériennes, la lecture des longueurs de lésions, l'extraction des ARN, ont été réalisés par mes soins. Tout au long de ma thèse, en plus d'avoir suivie de nombreuses formations en bioinformatique, j'ai été formée par Julie Orjuela aux analyses de RNAseq. Alvaro L. Perez-Quintero m'a par la suite assistée dans les analyses des données brutes de séquençage des échantillons de cette étude; le traitement des données ressortant de ces analyses a ensuite été pris en charge par moi-même.

RNA-seq approach used to uncover potential candidate executor genes against African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains

Marlène Lachaux¹, Alvaro L. Perez-Quintero¹, Julie Orjuela^{1,2}, Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²DIADE DIversity-Adaptation-DEvelopment of plants, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, CNRS, Montpellier, France

Abstract

Bacterial leaf blight (BLB) of rice, caused by the gram-negative bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), is a devastating disease responsible of considerable losses and yield reductions in Asia and Africa. Through its type-III secretion system *Xoo* injects Transcription Activator-Like Effectors (TALEs) into the host cell, hence modulating the expression of plant genes to promote bacterial colonization. Few relevant target genes of TALEs have been identified so far, but some of them have been reported as major virulence effectors by targeting susceptibility (*S*) genes whose overexpression contributes to the development of the disease. On another hand, plants have evolved to "trick" TALEs into driving the expression of so-called executor (*E*) genes leading to a resistance reaction that stops disease development. Although in rice, four *E* genes induced by *Xoo* TALEs have been identified and cloned, their cognate TALEs have never been detected in African *Xoo* strains. So far, we have identified four TALE candidates conferring avirulence to the *Xoo* strain MAI1 on different rice varieties, and confirmed the avirulence activity of two. In this study, results demonstrated that TalD, an avirulence factor common to the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, relies on its activation domain to promote resistance in IR64. With the aim of identifying potential *E* genes underlying IR64 resistance to MAI1 and BAI3, we used an RNAseq approach combined to *in silico* EBE prediction, allowing for the identification of several candidate *E* genes.

Introduction

To date, there are approximately 400 species of plants that serve as host for the plant-pathogenic bacteria *Xanthomonas*, including a wide variety of monocotyledons and dicotyledons, of which crops of important agronomic interest such as tomato, rice, cotton, wheat, cassava, or citrus (Jacques et al. 2016). The gram-negative bacteria *Xanthomonas* secretes via its type-III secretion system (T3SS) a cocktail of effectors into the host cell, which can be distinguished in two families, the TAL (Transcription Activator-Like) and the non-TAL effectors. In different pathosystems TAL effectors (TALEs) play an important role in pathogenicity. TALEs are characterized by a nuclear localization signal (NLS) allowing them to enter the nucleus, a central domain composed of tandem repeats enabling them to bind to DNA in a specific manner, and an acidic activation domain (AD) allowing the recruitment of the transcriptional machinery. The repeat region is composed of sequences of 33-34 nearly-identical amino acids, of which the residues in position 12 and 13 are hypervariable and responsible for the DNA stabilization and interaction, they are called RVDs (Repeat Variable Di-residues). TALEs bind to a DNA sequence called EBE for "Effector Binding Element", located in the promoter of the target genes. In 2009, two teams (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) deciphered simultaneously the code governing the interaction between TALE and DNA, demonstrating that each RVD can fix a specific nucleotide and consequently allowing to predict target EBEs from TALE sequences. TALEs were known to promote disease through the induction of susceptibility (*S*) genes, which are essential to the proliferation of bacteria into the plant (Hutin et al. 2015). Among the *S* genes targeted by TALEs, the *SWEET* (*Sugar Will Eventually be Exported Transporters*) gene family, encoding sugar uniporters, is the most studied (Streubel et al. 2013; Chen 2014; Cox et al. 2017). Even if TALEs primary role seems to be allowing disease development, they were first identified at promoting resistance mechanisms (Bonas et al. 1989; Hopkins et al. 1992). To date, three types of resistance mediated by TALEs have been describe. The first one, is called "resistance by loss of susceptibility" and results of a polymorphism in the TALE's EBE of a susceptibility gene compromising its induction and consequently disease development. Otherwise, TALEs can be recognized as a "classical" type-III effector (T3E) through a nucleotide-binding domain leucine rich repeat containing receptor (NLR) protein thus triggering a resistance cascade and finally an hypersensitive response (HR). To date, two NLRs from the tomato plant and rice, respectively named Bs4 and Xa1, are known to induce TALE-dependent resistance (Yoshimura et al. 1998; Schornack et al. 2004). These NLR recognize TALE independently of their RVD sequence and activation domain (AD). Bs4 is constitutively induced and perceives AvrBs4 in the cytoplasm. Xa1 recognizes most of the *Xoo* TALEs and acts in the nucleus (Ji et al. 2016). Finally, some TALEs can bind to the promoter of a so-called executor (*E*) gene which blocks disease development. In the last case, with

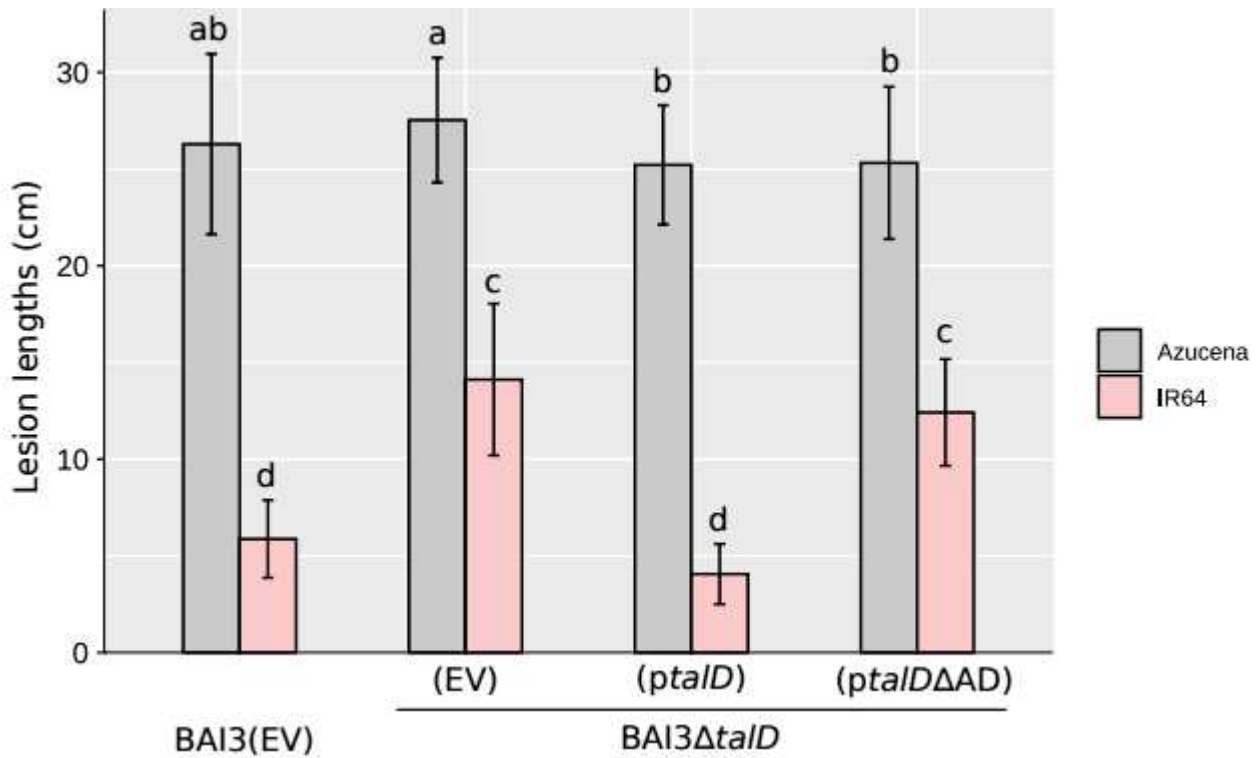


Figure 1. Phenotypic characterization of *TalD* avirulence factor on the IR64 rice variety.

Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and BAI3Δ*talD* carrying an empty vector (EV), a plasmid with *talD* (*ptalD*) or a plasmid with *talD*ΔAD (*ptalD*ΔAD). To assess significance, the parametric test ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm SD. Experiment was repeated three times with similar results.

an EBE placed upstream of this type of gene, the plant ensures the attachment of a TALE to the gene promoter hence driving the initiation of a resistance pathway (Zhang et al. 2015).

To date six *E* genes, along with their associated avirulence TALEs, have been cloned, namely *Bs3* and *Bs4C-R* in pepper (Römer et al. 2007; Strauß et al. 2012) and *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* and *Xa27* in rice (Gu et al. 2005, 2008; Wang et al. 2015; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). Executor genes code for small proteins of unknown function and do not resemble the classical resistance proteins NLRs. The first executor gene to be cloned in rice was the *Xa27* gene (Gu et al. 2004), isolated by positional cloning. *Xoo* strains carrying the *tal* gene *avrXa27* are able to induce *Xa27* and consequently the production of a small protein secreted in the apoplast that is toxic to the cell. Overexpression of this protein results in thickening of the vascular bundle elements, as well as an HR that completely blocks the development of rice vascular bacterial disease (Wu et al. 2008). Regarding the *R* gene *Bs4C* from pepper, which is induced by the AvrBs4 TALE of *X. euvesicatoria*, rather than using laborious approach such as positional cloning, Strauß et al. (2012) succeed to isolate *Bs4C* by using Illumina-based transcriptome profiling combined with EBE predictions (Strauß et al. 2012). In 2021, this time through the combination of fine genetic mapping and transcriptomic approaches, Luo et al. (2021) managed to isolate the *R* gene *Xa7*, targeted by TALEs AvrXa7 and PthXo3 (Luo et al. 2021). The *E* gene *Xa7* was shown to confer highly durable resistance due to the fact that AvrXa7 plays a dual role, first by targeting this *E* gene thus initiating resistance pathways, and second by targeting the *S* gene *OsSWEET14* driving mechanisms leading to disease (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010).

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*), the causal agent of the bacterial leaf blight (BLB) of rice, is considered as a threat in Asia and West Africa due to important yield losses, ranging to 10% up to 50% (Liu et al. 2014). African and Asian *Xoo* strains are genetically distant from each other and differ by many traits. On the one hand, they are known to promote specific resistance, Quantitative Trait Loci (QTLs) and genes, in another hand they display a different number of *tal* genes, with a reduced TALome for African *Xoo* strains with up to 9 *tal* genes versus up to 19 for Asian strains (Gonzalez et al. 2007; Salzberg et al. 2008).

In previous studies, several QTLs conferring resistance to the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 were evidenced in IR64 through the use of Recombinant Inbred Lines (RILs) from the cross between the elite *indica* rice variety IR64 and the *japonica* landrace Azucena (Djedatin et al. 2016; Lachaux et al. in prep). Two of them, identified on chromosome 7 (*qABB-7*) and 11 (*qABB-11*), have a large effect explaining 36% and 18% of the phenotypic variance observed upon the inoculation of MAI1 and BAI3, respectively (Lachaux et al. in prep). In addition, the resistance

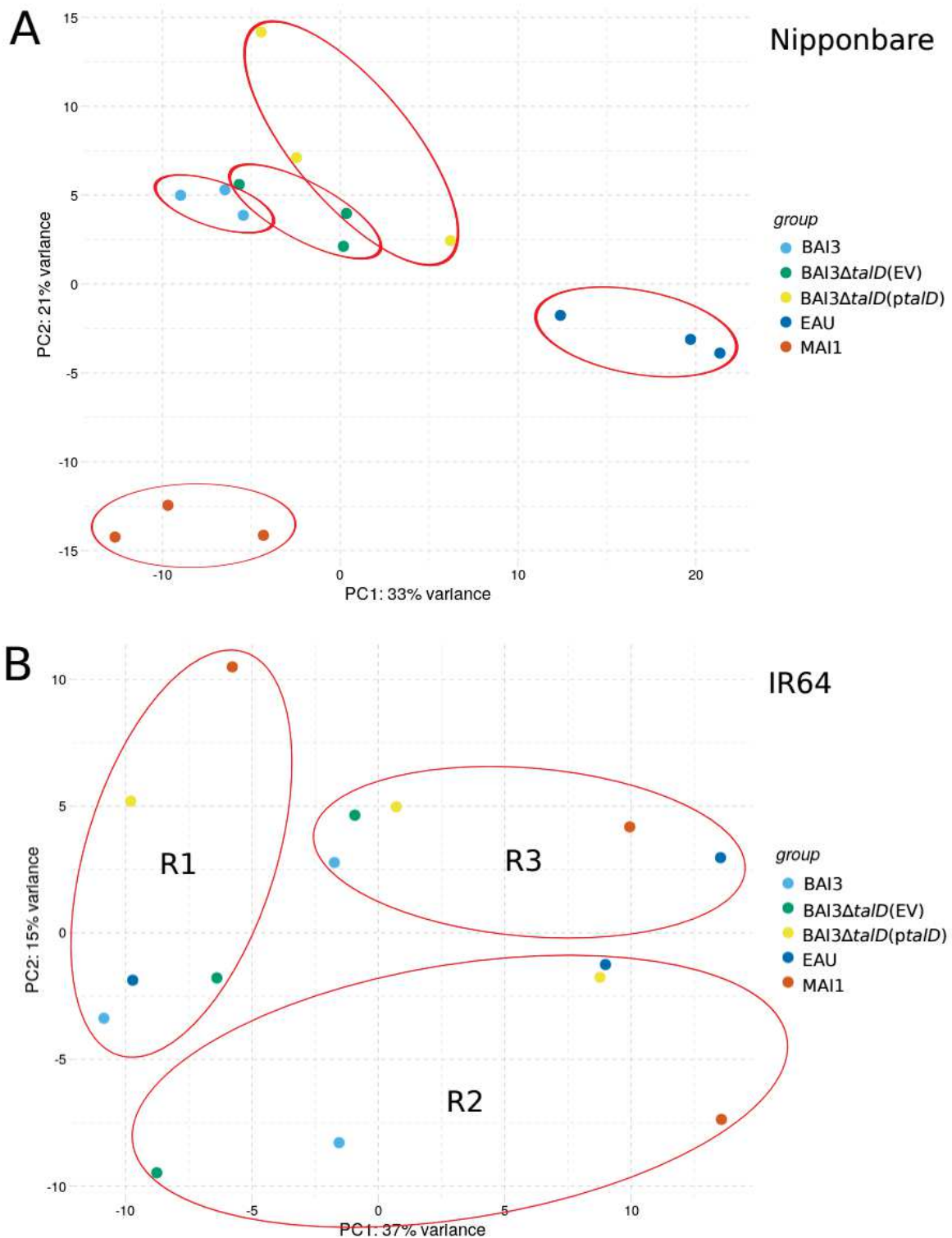


Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries.

Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries was evaluated. Dots represent the different treatments applied to the rice varieties Nipponbare (A) and IR64 (B). Red circles surround samples from the same treatment (A) or biological replicate (B).

QTL *qABB-11* identified in response to MAI1 and BAI3, was reported to be more specifically highlighted by TalD which is conserved between both strains. In this study, we first aimed at determining if the resistance in IR64 promoted by TalD is activation domain dependent. Our results show that the deletion of the activation domain of TalD impaired its avirulence activity on IR64. To go further on this lead, a transcriptome analysis was carried out with a strain mutated for the avirulent TALE in order to sort out differentially expressed genes in comparison to the wild type strain BAI3 and identify candidates that may act as *E* genes. Furthermore, transcriptional responses of susceptible and resistant rice varieties to the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 was studied. We report here on the identification of several candidate genes responding to MAI1 and BAI3 and more specifically to TalD.

Results

The transcriptional activation domain of TalD is required to trigger resistance on IR64

In previous work we reported the avirulence activity of TalD on the rice variety IR64 (Lachaux et al. preprint). Herein to test whether the resistance promoted by TalD relies on the induction of an *E* gene, the acidic activation domain of this TALE was deleted (*ptalDΔAD*). The wild-type African *Xoo* strain BAI3, and the mutant strain BAI3Δ*talD* carrying either an empty vector (EV), TalD (*ptalD*) or its activation domain deleted (*ptalDΔAD*) derivatives, were inoculated on the resistant rice variety IR64 and the susceptible control landrace Azucena (Fig. 1). Leaf-clip inoculation of the three mutant strains produced WT-like symptoms on Azucena, indicating that virulence of these strains is not affected. As previously reported, the inoculation of the mutant strain BAI3Δ*talD* carrying an empty vector displayed on IR64 an increase in lesion lengths compared to the wild-type strain BAI3, while when a plasmid-borne copy of *talD* was expressed avirulence was fully restored. In contrast, the activation domain mutant *ptalDΔAD* did not allow to restore the avirulence phenotype of BAI3Δ*talD* on IR64 (Fig. 1). Western-blot analysis verified that TalD and TalDΔAD accumulate at comparable levels (Fig. S1). Overall, these results indicate that TalD relies on its acidic activation domain to promote resistance in IR64, which would likely rely on the induction of an *E* gene.

Assessment of IR64 and Nipponbare RNAseq libraries

Having identified in a previous study several QTLs of resistance to MAI1 and BAI3 including one specific of TalD on the chromosome 11 in IR64 (Chapter 2, Lachaux et al. in prep), and based on the assumption that at least TalD transcriptionally activates an *E* gene, we initiated a RNAsequencing-based transcriptome profiling to identify candidate *R* genes. The resistant rice variety IR64 and the susceptible variety Nipponbare, whose genomes are publicly available, were

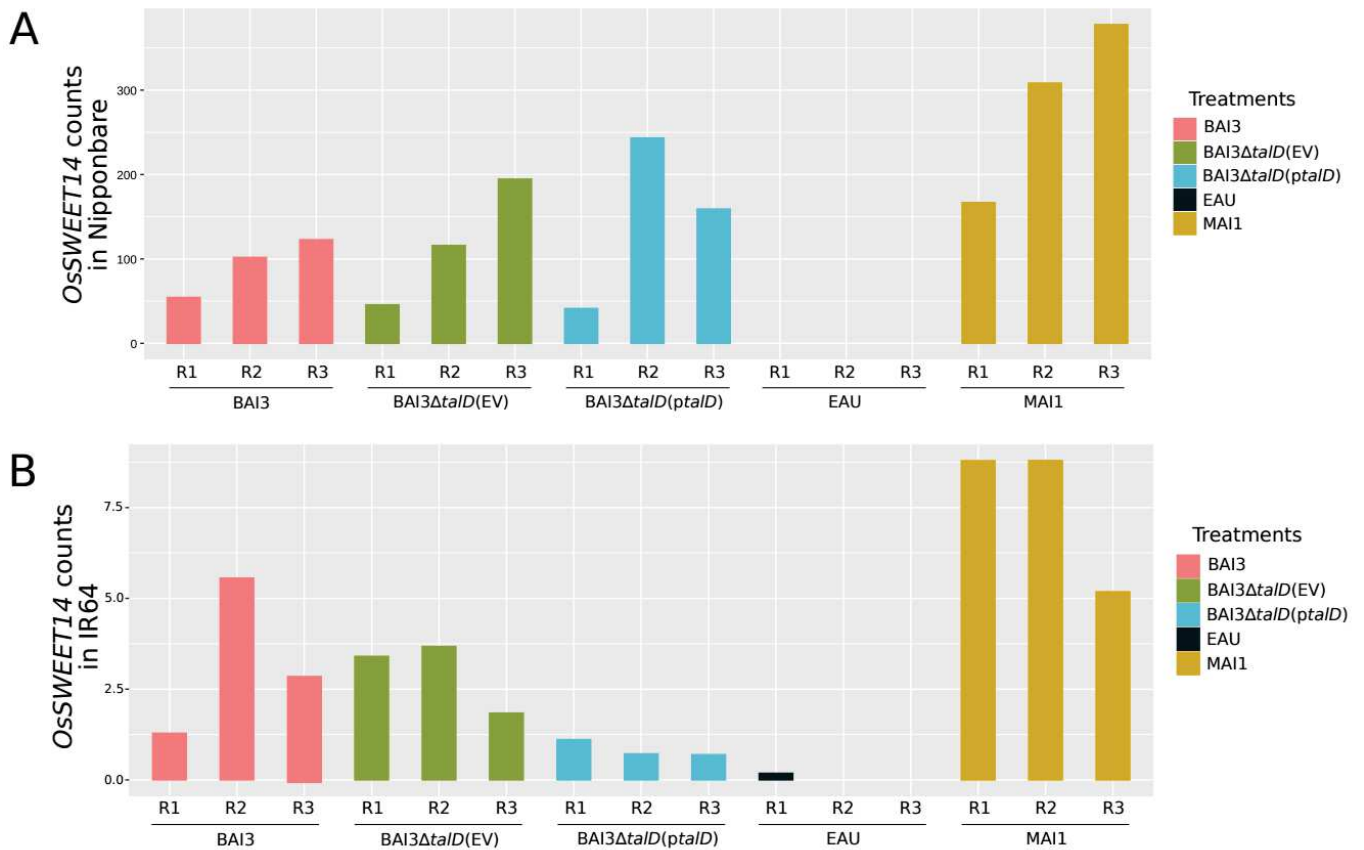


Figure 3. Differential gene expression of *OsSWEET14* in Nipponbare and IR64 rice varieties.

Leaves of 3-week-old Nipponbare (A) and IR64 (B) rice varieties were infiltrated with wild-type *Xoo* strains MAI1 and BAI3 the BAI3 Δ *talD* mutant complemented with either an empty vector (EV) or *talD* (*ptalD*), and with water as mock control. Gene expression level of the virulence target genes *OsSWEET14* was determined using HTseq-count (v0.6.0) (Anders et al. 2015), and normalized using reads per million mapped reads values.

leaf infiltrated with the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and the mutant strain BAI3 Δ *talD* carrying an empty vector or complemented with *talD*.

RNAseq libraries were generated from leaf tissues collected 24 hours post-inoculation. As a reference for infection status, the induction of the *S* gene *OsSWEET14* which is known to be over-expressed by the *Xoo* strains MAI1 and BAI3 (Streubel et al. 2013), was evaluated in our biological samples in order to assess their quality prior sequencing. Even though, no disease symptoms was observed on the leaves 24 hours post-infiltration, the up-regulation of *OsSWEET14* by the four African *Xoo* strains is detected in Nipponbare and IR64 (Fig. S2).

Each library comprised a minimum of 20 million paired-end reads with an average of 23.2 million reads, and with an average read length of 300 nucleotides. The genomes of Nipponbare and IR64, publicly available on the Rice Genome Hub platform (Droc et al. 2019), were used to map those reads using STAR (v020201) (Dobin et al. 2013). Overall, the libraries had around 93% of reads mapping to the genome and percentages were similar between Nipponbare and IR64. Next, HTseq-count (v0.6.0) (Anders et al. 2015) was used with the mapping results to count the number of reads assigned to each gene to report their expression values. Similar number of reads were mapped to genes in total in each library. Afterwards, according to a Principal Component Analysis (PCA), the Nipponbare libraries tended to group by treatments, while the IR64 libraries group according to biological replicate (Fig. 2). In order to compare the different treatments, differential expression of each gene was calculated using DESeq2 (Love et al. 2014) and EgdeR (Robinson et al. 2009). To facilitate comparisons across IR64 and Nipponbare genomes, reciprocal blast between the two genomes was performed to identified orthologs, identifying 30,990. Of these 53 and 59 ortholog pairs were identified as differentially expressed in response to BAI3 and MAI1, respectively, in both genomes IR64 and Nipponbare, when compared to a mock control.

The *S* gene *OsSWEET14*, previously used as a marker of infection to assess, prior sequencing, the RNA libraries quality, was afterwards searched in each RNAseq library to evaluate its induction pattern. *OsSWEET14* was found induced in each library except in the mock controls but, unexpectedly, had much lower normalized counts in IR64 libraries compared to Nipponbare libraries (Fig. 3). To ensure that this was not due to a faulty assembly or annotation of the IR64 genome, the reads of each IR64 libraries were also mapped on the Nipponbare genome. The IR64 libraries had similar percentage of reads mapping to the Nipponbare genome as previously observed on the IR64 genome and the level of expression of *OsSWEET14* was similar regardless of the genome used for mapping, meaning the transcriptomic results observed are not related to a genome

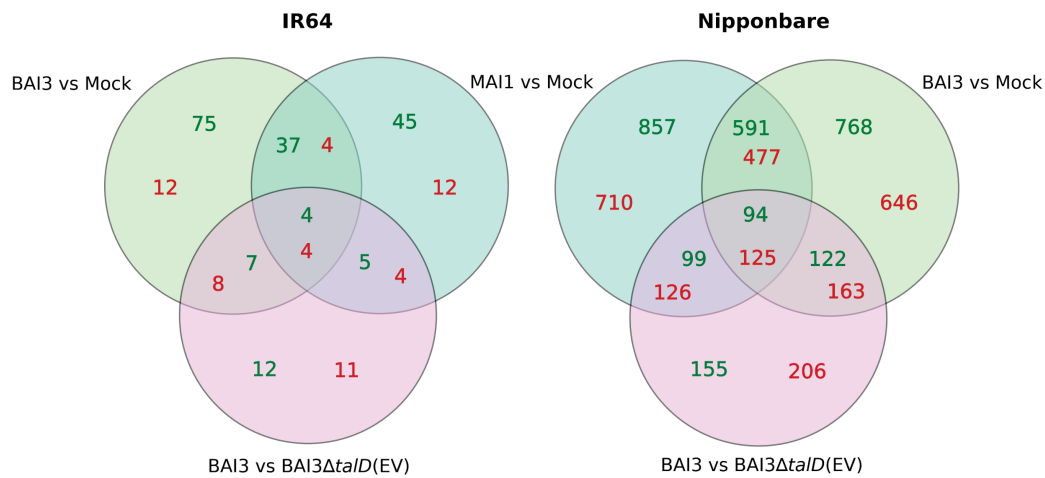


Figure 4. Venn diagram of differential expressed genes in IR64 and Nipponbare, upon the inoculation of MAI1, BAI3 and the BAI3ΔtalD(EV) mutant strains.

IR64 and Nipponbare rice varieties were inoculated with the African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and the BAI3ΔtalD(EV) mutant, and with water as mock control. The number of up-regulated (green) and down-regulated (red) genes between the different comparisons are indicated within circles.

issue but probably to a biological or technical issue. It is possible that for some unknown reason, the IR64 samples did not capture enough cells or tissues responsive to the bacteria, resulting in a diluted transcriptome, which also explains the lack of grouping according to treatment in the PCA of the IR64 libraries. Another possibility is that the time point (24 hours) used was not appropriate to this experiment.

Concerning the *BAI3ΔtalD(ptaID)* strain, the transcriptome profile expected was the same as the wild-type strain *BAI3*, with a higher expression profile of the genes potentially induced by *TalD* (directly and indirectly), in IR64. Unfortunately, the RNAseq libraries of this strain displayed an expression profile similar as the mock condition in IR64 and Nipponbare. We assumed then another problem had occurred in the process of this experiment, so the *BAI3ΔtalD(ptaID)* strain libraries have been removed from the analyses.

Differential expression of genes in resistant and susceptible varieties upon *BAI3*, *MAI1* wild-type strains, and the *BAI3ΔtalD(EV)* mutant strain

Differential expression of genes was assessed using a threshold of Log_2FC (Fold Change) superior and inferior to 1 and -1 respectively, and an adjusted p.value ≤ 0.1 (calculated with either DESeq2 or EdgeR), moreover three comparisons were evaluated. First, the wild-type strains *MAI1* and *BAI3* were compared to the mock control condition, in IR64 and Nipponbare. In IR64, 57 genes were found to be differentially expressed by *MAI1*, including 45 genes up-regulated and 12 genes down-regulated. Regarding *BAI3*, 87 genes were detected differentially expressed, with 75 genes up-regulated and 12 genes down-regulated. On the other hand, 857 and 710 genes were respectively up- and down-regulated by *MAI1*, and 768 and 646 genes were up- and down-regulated by *BAI3*, in Nipponbare. Next, the differential gene expression induced by the wild-type strain *BAI3* compared with the mutant strain *BAI3ΔtalD(EV)* was evaluated. In the resistant variety IR64, 12 and 11 genes were found to be up and down-regulated, respectively, by the wild-type strain. While on Nipponbare, 155 and 206 genes were detected as up- and down-regulated by *BAI3*. The fact that there are more differentially induced genes in Nipponbare than in IR64, could be justified by the respectively weak vs. strong difference between treatments, as shown in the PCA (Fig. 2) .

Then, the intersection of the two comparisons in IR64, *BAI3* vs. mock and *BAI3* vs. *BAI3ΔtalD(EV)*, revealed seven and eight genes commonly up- and down-regulated. Furthermore, 37 and 4 genes were listed to be up- and down-regulated in IR64, by both strains *MAI1* and *BAI3* (Fig. 4). Among those 37 up-regulated genes, 4 were also identified as up-regulated by *BAI3* in

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	Gene expression level ^c (Count/Million)				Ortholog DE ^d	QTL ^e	EBE prediction for TalD ^f					
			BAI3	BAI3 Δ talD(EV)	Mock	MAI1			EBE predicted in IR64	Rank	Score	EBE predicted in Nipponbare	Rank	Score
<i>OsIR64_03g045980</i>	<i>LOC_Os03g61760</i>	Squamosa promoter binding protein-like 6	414.7915	101.4343	101.9531	258.4836	TRUE	FALSE	TRUE	2	13.747	TRUE	3	13.581
<i>OsIR64_07g032900</i>	<i>LOC_Os07g48760</i>	CBL-interacting protein kinase 3	7.9138	0.2632	0.4479	5.0145	TRUE	FALSE	TRUE	306	10.501	TRUE	421	10.364
<i>OsIR64_09g020440</i>	<i>LOC_Os09g34214</i>	Glycosyltransferase	12.5095	6.1651	3.4498	7.1850	TRUE	FALSE	FALSE	NA	NA	FALSE	NA	NA
<i>OsIR64_12g016550</i>	<i>LOC_Os12g31000</i>	PUM-HD domain-containing protein	0.3232	0.1539	0.0794	1.2593	TRUE	FALSE	FALSE	NA	NA	FALSE	NA	NA

Table 1. Common differentially expressed genes induced by BAI3 and MAI1.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation.

^c Gene expression levels were normalized using fragments per kb of exons per million mapped reads values.

^d Ortholog identified and differentially expressed (DE) in Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

^f Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

comparison to the mutant strain *BAI3ΔtalD*(EV) (Table 1; Fig. 4). These four genes represent great candidate *E* genes induced by TalD.

In Nipponbare, 122 and 163 genes were revealed to be up- and down-regulated by BAI3 when compared to the mock control and the mutant strain (Fig. 4). Moreover 591 and 477 genes were identified to be commonly up- and down-regulated by MAI1 and BAI3 by comparison with the mock control (Fig. 4). Finally, 94 up-regulated and 125 down-regulated genes were found to be commonly induced in Nipponbare by MAI1 and BAI3 when compared to the mutant strain and the mock control (Fig. 4). Those 94 up-regulated include the 4 candidate *E* genes previously identified in IR64 (Table 1).

Next, gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock controls, in the resistant and susceptible conditions, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with a $p\text{-value} \leq 0.05$ (Droc et al. 2019). LOC_ID from Nipponbare orthologs were used for GO enrichment of IR64 differentially expressed genes. As shown in the Fig. S3, in the susceptible condition (Nipponbare) several genes involved in the photosynthesis pathway are down-regulated by MAI1 and BAI3, which coincides with the infection process of *Xoo*. In addition, genes of the hydrogen peroxide (H_2O_2) metabolic and catabolic processes are up-regulated by BAI3, reflecting the perception of the pathogen (Fig. S3). In the resistant condition (IR64), genes involved in various biosynthetic processes, such as polysaccharide, carbohydrate or phenylpropanoid processes, are down-regulated by MAI1 and BAI3 (Fig. S4). No GO enrichment was found for up-regulated genes in IR64 by MAI1 and BAI3.

Prediction of candidate genes targeted by TalD

The top 1000 predicted target genes of TalD in each genome (IR64 and Nipponbare) were then highlighted through the Talvez program v.3.2 (Pérez-Quintero et al. 2013). Talvez scores ranged from 9.3 to 14.1 in IR64, and from 9.5 to 13.9 in Nipponbare. Of the 1000 potential candidate targets of TalD, 7 and 110 were present among the differentially expressed genes in IR64 and Nipponbare, respectively, pooling all conditions.

Next, we examined the four up-regulated genes in IR64, that were differentially expressed by BAI3 and MAI1 compared to the mock control, and in the condition BAI3 vs *BAI3ΔtalD*(EV) (Fig. 4). Out of these four genes two, *OsIR64_03g045980* and *OsIR64_07g032900*, coding for a "Squamosa promoter binding protein-like 6" (SPL6) and a "CBL-interacting protein kinase 3" (CIPK3) respectively, contained predicted EBE sequence for TalD in their promoter. According to Talvez their rank positions were 2 and 306, and their scores were 13.7 and 10.5, respectively. These two

	TAL_ID	SEQ_ID ^a	Annotation	Chromosome	Strand	SCORE ^b	EBE strand ^c	TALBS_ distance_from _end ^d	TALBS_start ^e	TALBS_end ^e	TALBS_ sequence ^e	RANK ^f
QTL <i>qABB-11</i>	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>1130</i>	Expressed protein	Chr 11	-	10.156	+	-194	807	830	TACCCAGCT ATATCCCAA CCCCA	465
	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>1180</i>	Conserved hypothetical protein	Chr 11	-	9.925	-	-147	831	854	AACAGCTCT CTATCCCATC CTCC	601
	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>3100</i>	Expressed protein	Chr 11	+	9.801	+	-99	902	925	TACGCGTGT CAATTCCAT CAgca	670

Table 2. Genes in the QTL interval of *qABB-11* with a binding site predicted for TalD.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Talvez program was used to score the interaction between TalD and the EBE sequence ; the higher the score it is the greater is the interaction.

^c Talvez program was used to evaluate the position of EBE_{TalD} on the genome strand of IR64.

^d TalD binding site (TALBS) position from the end of the 1000bp selected from the ATG sequence.

^e TalD binding site (TALBS) start/end position, and the genome sequence bound.

^f Rank position among the top 1000 potential TalD targets.

genes had their Nipponbare orthologs, *LOC_Os03g61760* and *LOC_Os07g48760*, also differentially expressed and with the same EBE sequence predicted. Their respective rank positions and scores, were 3 and 421, and 13.5 and 10.3, based on Talvez (Table 1). The protein sequence of these two genes were then compared between orthologs. The protein sequence of CIPK3 was exactly the same between IR64 and Nipponbare, while the protein sequence of SPL6 has two inserted sequences, of 28 and 10 amino-acids, in the IR64 protein versus the Nipponbare one (Fig. S5).

Transcriptional response and TalD binding site predictions of genes located in the QTL intervals revealed by BAI3 and MAI1 in IR64

In previous study five resistance QTLs located in IR64 were revealed by the presence of the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively on chromosomes 3 (*qABB-3a*), 4, 7 and 11, and on chromosomes 3 (*qABB-3b*) and 11. The QTL on chromosome 11, *qABB-11*, being shared by both strains, was the first analyzed for deregulated genes in response to MAI1 and BAI3. Unfortunately, no differentially expressed genes present in the IR64 RNAseq libraries was found in this QTL, whereas three genes (two expressed proteins and one conserved hypothetical protein) located in this QTL were identified to have an EBE for TalD (Table 2). Among these three genes only one, *OsIR64_11g033100*, has also an EBE for TalD in its ortholog (*LOC_Os11g47790*) promoter.

Regarding the second QTL revealed by BAI3, *qABB-3b*, only one gene differentially expressed, *OsIR64_03g006810*, and annotated as a "detoxification" protein, was identified at the QTL (+/- 1 Mbp out of the interval). The ortholog in Nipponbare, *LOC_Os03g08900*, was also identified as differentially expressed (Table 3) and encodes for a MATE transporter.

Concerning the three other QTLs conferring resistance to MAI1 in IR64, one gene was reported in each QTL on chromosomes 4 and 7 (+/- 1 Mbp out of the interval), and no gene was reported in the QTL on chromosome 3 (*qABB-3a*) (Table 3).

A closer look at each technical replicate

As the assessment of the libraries showed that the transcriptome of the IR64 libraries might be diluted, we decided to examine each technical replicate one by one, in order to identify more differentially expressed genes in the QTL *qABB-11*. Several genes located in *qABB-11* (+/- 1 Mbp out of the interval) were identified differentially expressed in at least one of the three technical replicates, when comparing the wild-type strain BAI3 and the mock conditions in IR64 (Table 4). Among these genes three, *OsIR64_11g033220*, *OsIR64_11g032900* and *OsIR64_11g033060*, coding for a "GRAS-domain containing protein", a "putative xylanase inhibitor protein 1" and a "non coding RNA" respectively, were identified in two of the three replicates. None of these three

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	Gene expression level ^c (Count/Million)				Ortholog DE ^d	QTL ^e	EBE predicted in IR64 ^f
			BAI3	BAI3 Δ talD(EV)	Mock	MAI1			
<i>OsIR64_03g006810</i>	<i>LOC_Os03g08900</i>	Detoxification protein	212.9686	176.6330	87.7731	88.0699	TRUE	<i>qABB-3b</i>	FALSE
<i>OsIR64_04g014960</i>	<i>LOC_Os04g33150</i>	Desiccation-related protein PCC13-62	8.0437	13.6094	3.0215	7.9804	TRUE	<i>qABB-4</i>	FALSE
<i>OsIR64_07g006980</i>	<i>LOC_Os07g08800</i>	Expressed protein	1.9302	3.1067	1.7927	5.5221	FALSE	<i>qABB-7</i>	FALSE

Table 3. Differentially expressed genes located in the QTLs in IR64 revealed by MAI1 and BAI3.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation.

^c Gene expression levels were normalized using reads per million mapped reads values.

^d Ortholog identified and differentially expressed (DE) in Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

^f Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

genes is differentially expressed in Nipponbare variety comparing BAI3 and mock conditions. However, none of these genes have a predicted EBE for TalD in both genomes.

While no gene was found to fulfill all the expected criteria for an *E* gene: differential expression, overlap with QTL, and presence of an EBE, several genes fulfill one or more of these conditions and are likely to be involved in the resistance response of IR64 against MAI1 and/or BAI3. These candidate genes are summarized in the Table 5.

Discussion

In this study, we demonstrated that the avirulence factor TalD previously identified (Lachaux et al. preprint) relies on its activation domain to induce resistance in IR64, suggesting hence an *E* gene is involved. In 2012, Strauß et al. used transcriptome analysis to identify the *E* gene *Bs4C* from pepper. They were the first to use RNAseq analysis to sort out an *E* gene. They went from 16,220 differentially expressed genes in the RNAseq to 32 candidate genes and finally selected 1 whose corresponding reads were detectable only in the resistant parent but not in the susceptible one. Using an F₂ population allowed them to reveal the complete linkage of the candidate locus and the *Bs4C*-triggered HR. Next, the comparison of the allele sequences between resistant and susceptible variety showed that they differ in their predicted promoter and coding sequences, and further experiments demonstrated that the induction of the *Bs4C*-triggered HR relies on the promoter polymorphism (Strauß et al. 2012). Finally, they used the TALE code to predict the sequence in the promoter of *Bs4C* that would be bound by AvrBs4. To date, despite what the *Bs4C* case shows, finding an *E* gene has often been tricky, even when genomic and transcriptomic data exist, as in the identification of *Xa7*. This gene was identified by RNAseq, but previously it was fine-mapped and was difficult to identify for several years (Luo et al. 2021).

In this study we expected to identify candidate *E* genes that were differentially expressed in RNAseq data, contained a predicted TALE binding site and collocated with identified QTLs. No candidate gene that would have been sorted out by the combination of all three approaches was found which might be explained either by technical reasons related to biases and limitations of the data used, or to biological reasons related to the nature of the *R* gene. Concerning RNAseq, we identified potential problems with IR64 treatments, mainly that there was not a clear effect of the treatments in the transcriptome, maybe caused by biological or technical issues, which lead us to repeat the experiment in the future. Despite this potential inconvenient, as said there might also be biological reasons why the target would be not found. For example, the timing of the evaluation of the samples

Name IR64 ^a	Annotation	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3
<i>OsIR64_11g031440</i>	Protein kinase domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g031510</i>	Expressed protein	x		
<i>OsIR64_11g031560</i>	Conserved hypothetical protein	x		
<i>OsIR64_11g032020</i>	Jacalin-type lectin domain-containing protein			x
<i>OsIR64_11g032080</i>	Os11g0681600 protein	x		
<i>OsIR64_11g032490</i>	Protein kinase domain-containing protein	x		
<i>OsIR64_11g032710</i>	Receptor kinase TRKc	x		
<i>OsIR64_11g032820</i>	Myb-related protein MYBAS1	x		
<i>OsIR64_11g032860</i>	Glycosyl-hydrolase-18 domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g032900</i>	putative xylanase inhibitor protein 1	x		x
<i>OsIR64_11g032970</i>	RING-type domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g033060</i>	non-coding RNA	x	x	
<i>OsIR64_11g033220</i>	GRAS-domain containing protein		x	x

Table 4. List of candidate genes differentially expressed between BAI3 and mock conditions in IR64, located in *qABB-11*.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>). NA means "non-annotated".

(24 hours) could be inadequate to identify the effect of TalD on the transcriptome; hence it would be interesting to try different time points to see if other candidate genes are revealed.

The identification of susceptibility genes through the use of transcriptome analyses is ideal as they are known to be strongly overexpressed when plant is infected by pathogens. Contrary to NLR proteins whose resistance mechanisms and transcriptome change related to their induction are well studied (Cui et al. 2015), the function of *E* genes is not as well understood and we have almost no insight on the level of expression needed to mediate resistance. Moreover, we don't have enough insight into the functions of *E* genes in the absence of bacterial challenge. The question remains whether *E* genes are repressed when there is no bacteria, as *E* genes can be considered as toxic for the plant (Zhang et al. 2015), or whether there is a basal expression in non-infectious condition and up-regulation under pathogen infection. In this study, differential expression of genes was assessed using a threshold of Log₂FC superior to 1 and inferior to -1, with an adjusted p.value of maximum 0.1. These default parameters, are commonly used in transcriptome analyses to ensure that few false positives are retained. However, it can be supposed that if the induced gene is considered toxic to the plant, only a very small amount would be needed to cause an HR, resulting in a low level of expression of this gene. In that case the differential expression of the *E* gene might not be retained regarding the default parameters.

Since the results of this study suggest that TalD promotes resistance dependent on the induction of an *E* gene, predictions of TALE binding sites for TalD in IR64 and Nipponbare were assessed with the Talvez program (Pérez-Quintero et al. 2013). In previous studies, EBE for avirulence genes were predicted in the first 1000bp of the promoter sequence of *E* genes (Römer et al. 2009; Strauß et al. 2012; Wang et al. 2015), therefore in the course of this study only this region was screened for EBE prediction. Herein, very few candidates of the RNAseq analyses were potentially targeted by TalD. When *Xa23* was identified, the predicted EBE for *AvrXa23* using the TALE-NT program had a score twice as high (indicating lower likelihood of binding) as those previously predicted for the avirulence genes *AvrXa10*, *AvrXa27*, *AvrBs3*, and *AvrBs4*, indicating that the RVDs of *AvrXa23* poorly match to the EBE_{*AvrXa23*} sequence (Wang et al. 2015). Concerning the *AvrXa27-Xa27* pair, the score predicted for the EBE sequence ranked extremely low (indicating lower likelihood of binding) with the Talvez program (Pérez-Quintero et al. 2013). With respect to these results, we could wonder if the poor prediction scores for known TAL effector - *E* gene pairs do not reflect something biological ; there could be a selection on the bacterial side against a good match with an *E* promoter to avoid binding. Thus, by limiting the list of candidate genes to the top 1000 potential targets we could miss the one we are interested in, as it is possible that TalD RVDs poorly match to the EBE_{TalD}

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	DE gene in IR64 ^c	EBE prediction for TalD ^d	QTL ^e
<i>OsIR64_03g045980</i>	<i>LOC_Os03g61760</i>	Squamosa promoter binding protein-like 6	x	x	
<i>OsIR64_07g032900</i>	<i>LOC_Os07g48760</i>	CBL-interacting protein kinase 3	x	x	
<i>OsIR64_09g020440</i>	<i>LOC_Os09g34214</i>	Glycosyltransferase	x		
<i>OsIR64_12g016550</i>	<i>LOC_Os12g31000</i>	PUM-HD domain-containing protein	x		
<i>OsIR64_03g006810</i>	<i>LOC_Os03g08900</i>	Detoxification protein	x		x
<i>OsIR64_04g014960</i>	<i>LOC_Os04g33150</i>	Desiccation-related protein PCC13-62	x		x
<i>OsIR64_07g006980</i>	<i>LOC_Os07g08800</i>	Expressed protein	x		x
<i>OsIR64_11g033060</i>	NA	non-coding RNA	x		x
<i>OsIR64_11g033220</i>	<i>LOC_Os11g47900</i>	GRAS-domain containing protein	x		x
<i>OsIR64_11g032900</i>	<i>LOC_Os11g47560</i>	putative xylanase inhibitor protein 1	x		x
<i>OsIR64_11g031130</i>	NA	Expressed protein		x	x
<i>OsIR64_11g031180</i>	NA	Conserved hypothetical protein		x	x
<i>OsIR64_11g033100</i>	NA	Expressed protein		x	x

Table 5. List of candidate genes involved in MAI1 and/or BAI3 resistance in IR64.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation. NA means "non-annotated".

^c Gene differentially expressed (DE) in IR64.

^d Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

sequence. Another possibility is that the gene inducing resistance in IR64 is a secondary target of TalD, and that TalD is inducing a transcription factor, at a low expression level, that will in turn induce the expression of an *R* gene whose expression will be higher than in the mock and/or susceptible conditions. This hypothesis would explain why a perfect match cannot be found in the different list of gene candidates between RNAseq, mapping and, TALE binding site predictions.

However, some of our candidates are interesting even if they don't match all the conditions. In a scenario where the gene responsible for resistance is targeted by TalD in both conditions (resistance and disease), but that the resistance activity is due to polymorphisms in the coding region, the gene *OsIR64_03g045980* coding for a SPL6 transcription factor would be a promising candidate. Squamosa Promoter binding Protein-Like (SPL) family genes encode transcription factors with a highly conserved DNA binding domain, known as SBP domain, and a bipartite nuclear localization signal motif, also highly conserved through the *SPLs* family (Klein et al. 1996; Cardon et al. 1999; Yamasaki et al. 2006). SPLs are usually known to be involved in the regulation of diverse processes, as plant growth, development, phytohormone signaling and stress responses (Zhong et al. 2019). In a previous study, an SPL6 transcription factor was reported in *Nicotiana benthamiana* to associates with the tobacco N immune receptor, an NLR protein that provides immunity against *Tobacco mosaic virus* (TMV). This association being detected only in the presence of the TMV effector, p50, it suggests that NbSPL6 is required for defense against TMV (Padmanabhan et al. 2013). Moreover, the presume ortholog of NbSPL6 in *Arabidopsis thaliana*, AtSPL6, has been pointed out to be required for the TIR-NB-LRR RPS4 immune receptor function against *Pseudomonas syringae* pv tomato (*Pst*) expressing the avrRps4 effector (Padmanabhan et al. 2013). Another candidate executor gene with a potential EBE for TalD is the CIPK3 serine-threonine protein kinase (*OsIR64_07g032900*) which is differentially expressed between the WT strain BAI3 and the mutant strain BAI3 Δ *talD*, but also in IR64 and Nipponbare, the resistant variety and the susceptible one. This candidate gene, unlike SPL6, has the exact same protein sequence in IR64 and Nipponbare. CIPK serine-threonine protein kinases are known to interact with calcineurin B-like (CBL) proteins. The latters are calcium sensor proteins that bind to the regulatory NAF domain of CIPK proteins, leading to the activation of the kinases in a calcium-dependent manner (Shi et al. 1999; Kim et al. 2000). The CBL-CIPK complex has been reported to be involved in various abiotic and biotic stress signaling, and more particularly in plant defense signaling in response to microbial infection (Pandey et al. 2014; Wang et al. 2016). Knowing that CIPKs form a complex with CBLs (Shi et al. 1999; Kim et al. 2000), it can be assumed that the protein sequence of the CIPK-interacting protein (CBL) is different in the two varieties, leading in one case to a resistance mechanism (IR64), and in another case to disease, due to lack of interaction between CIPKs and

CBLs (Nipponbare). Moreover, in a previous study it has been shown that OsCIPK31 interacts with diverse substrates in order to promote rice resistance against *Magnaporthe oryzae*, such as CBL2, CBL6, a VOZ transcription factor and the rice potassium channel protein OsAKT1 (Lin et al. 2021), hence expanding the list of candidate CIPK-interacting proteins. In addition, another study, reported the induction of two WRKY proteins, WRKY38 and WRKY62, by the salicylic acid-signaling activator, NPR1, activated and phosphorylated by CIPK11 after a bacterial infection (Xie et al. 2010). Regarding these two genes (*OsSPL6* and *OsCIPK3*), they encode a transcription factor and a kinase protein whose protein families are known to be involved in the activation of downstream pathways related to stress responses (Kolukisaoglu et al. 2004; Wang et al. 2018). Even if these genes are differentially expressed in both resistant and susceptible conditions, it is likely they induce, directly or not, a gene present in the QTL interval of *qABB-11* and which is either only present in the IR64 genome, or which has polymorphism in its coding sequence.

Regarding the genes in Table 4 differentially expressed in at least one of the three technical replicates, three of them *OsIR64_11g033220*, *OsIR64_11g032900* and *OsIR64_11g033060*, have been identified in two of the three replicates. These genes can be considered as good candidates for a novel type of BLB resistance gene as they are differentially expressed only in IR64 variety and they are located in the QTL interval of *qABB-11* revealed by MAI1 and BAI3 African *Xoo* strains. *OsIR64_11g033220*, coding for a GRAS-domain containing protein, represents a family of proteins which function as transcriptional regulators and play critical roles in development and signaling. GRAS-domain containing proteins are known to possibly interact with different types of transcription factors (TFs), such as basic helix-loop-helix type like Phytochrome interacting factors (PIFs), Spatula (STP), Alcatraz (ALC), and others classes of TFs, as Brassinazole Resistant1 (BZR1)/BES1, Ethylene Insensitive 3 (EIN3) or SPLs (Hakoshima 2018). *OsIR64_11g032900* encodes a putative xylanase inhibitor protein 1. Xylan is the major hemicellulose polymer in cell wall of cereals. To inhibit the hydrolytic activity of fungal and bacterial enzymes, like xylanase, from degrading the cell wall, plants produce xylanase inhibitors (Moscetti et al. 2015). A few studies reported that plants are able to sense the loss of cell wall integrity caused by the pathogen, and subsequently activate the defense signaling pathways (Bellincampi et al. 2014). Concerning *OsIR64_11g033060* gene, it produces non-coding RNAs, also named ncRNAs, they are usually grouped in two main classes: small (smRNAs) and long ncRNAs (lncRNAs). The first class is generally composed of RNA of less than 40 nucleotides (nts) in length which are involved in plant development and stress responses (Axtell 2013; Chitwood and Sinha 2014; Xie et al. 2015), whereas lncRNAs consist of 200 nts long, or more, RNA molecules, which do not encode any proteins. This second class of ncRNA are believed to be implied in different regulatory

mechanisms, such as histone and chromatin modifications, transcriptional regulation, target mimicking of miRNAs and post-transcriptional alterations (Yu et al. 2020).

Conclusions and Perspectives

Previously, we demonstrate the avirulence activity of TalD on IR64 (Lachaux et al. preprint). Here we report that this TALE depends on its activation domain to promote resistance, implying that TalD resistance in IR64 relies on the induction of an *E* gene. Through the combination of transcriptome analyses, binding-site prediction and mapping approach, candidate genes involved in the IR64 resistance against MAI1 and/or BAI3 were identified.

The next steps towards validation of these candidate genes are first to verify by RT-qPCR their induction in IR64 and Nipponbare, in infection condition (MAI1 or BAI3) vs. mock condition. If a candidate gene is also induced in Nipponbare, we will have to look more carefully at the coding sequence to see if there are polymorphisms between IR64 and Nipponbare sequences (as for the SPL6 protein), and for a possible secondary target of this gene that would be different between IR64 and Nipponbare. Afterwards, designer TALEs (dTALEs) could be generated and transformed into a virulent recipient, as PXO99^A, to see if there is a gain of resistance of IR64 by inducing these candidates. However, if a gain of resistance is observed upon the inoculation of one dTALE, it could be due to the induction of another gene ("off-target"). To avoid this risk, it will be necessary to design and test one or two other dTALEs targeting different sequences in the candidate gene promoter. We could also complement these previous analyses with ChIP-seq approach to improve the list of candidate genes targeted by TalD, or any other TALEs of MAI1 and BAI3.

Material and Methods

Bacterial strains and growth conditions

The bacterial strains used in this study are summarised in the Table X. *Xoo* strains were cultivated at 28°C in PSA medium (10 g peptone, 10 g sucrose, 1 g glutamic acid, 16 g agar, l⁻¹ H₂O). Rifampicin, kanamycin and gentamicin were added when appropriate to the medium at a final concentration of 100 µg/ml for each.

Plant material and plant inoculations

The resistant rice *indica* variety IR64, the susceptible *japonica* variety Nipponbare and the *japonica* landrace Azucena were used in this study. Experiments were performed under greenhouse conditions under cycles of 12 h of light at 28°C and 80% relative humidity (RH) and 12 h of dark at 25°C and 70% RH. Leaves of 3-week-old plants of IR64 and Nipponbare were inoculated by leaf-infiltration method (Schaad et al. 1996) with a bacterial suspension of an OD_{600nm} of 0.5. Three plants of each variety were inoculated with the *Xoo* strains MAI1, BAI3, BAI3 Δ *talD*(EV) and BAI3 Δ *talD*(*ptalD*) and with water as a "Mock" control, and the experiment was repeated three times. Leaves of 5-week-old plants were inoculated with the following *Xoo* strains MAI1, BAI3, BAI3 Δ *talD*(EV), BAI3 Δ *talD*(*ptalD*) and BAI3 Δ *talD*(*ptalD* Δ AD) by leaf-clipping method on IR64 and Azucena with a bacterial suspension of an OD_{600nm} of 0.2. Lesion lengths were scored 15 days post inoculation (dpi) on a minimum of eight plants, and the experiment was repeated three times.

RNA isolation and qRT-PCR

Leaves of 3-week-old rice plants were infiltrated with water or *Xoo* strains using an OD₆₀₀ of 0.5. At 24 hours post-inoculation, leaf segments from three plants were ground into a fine powder using the Qiagen Tissue-Lyser system (30 rps for 30 s, two times). Total RNA was isolated from rice leaves using Quiagen RNeasy plant mini kit following the manufacturer's recommendations (Quiagen). cDNA was generated from 1.6 µg RNA using the SuperScript ® III First-Strand Synthesis System for RT-PCR following the manufacturer's recommendations (Invitrogen). Real-time PCR was performed on the Mx3005p multiplex quantitative PCR system (Stratagene, La Jolla, CA, USA), using 3.5 µl of the Mesa blue 2X PCR MasterMix for SYBR® Green (Eurogentec, <http://www.eurogentec.com>), 2 pmol forward primer, 2 pmol reverse primer and 2 µl of the RT product diluted 10 times. For each gene, three independent biological replicates were analyzed. cDNA amounts were normalized using actin as housekeeping gene.

Bioinformatic analyses

STAR (Spliced Transcripts Alignment fo a Reference) software (Dobin et al. 2013) was used to map reads against the *Oryza sativa* cv. Nipponbare (version MSU7) and cv. IR64 (Rice Genome Hub platform versions; (Zhou et al. 2020) genomes. The count values for each transcripts generated were obtained using HTseq-count (Anders et al. 2015), and their differential expression was assessed using EdgeR (adjusted p.value = 0.1) (Robinson et al. 2009) and DESeq2 (adjusted p. value = 0.1) (Love et al. 2014).

Regarding EBE prediction, the software Talvez v.3.2 (default parameters) (Pérez-Quintero et al. 2013) used the 1000 bp located upstream of the translation start site of each gene to predicted binding sites for TalD in the two rice genomes. The top 1000 predicted targets with best score were kept for analyses.

Expression Analysis by Western Blotting

The *Xoo* strains carrying plasmid encoding native TALE or empty vector (pSKX1), were grown in liquid PSA medium supplemented with the corresponding antibiotics at 28°C. Cells of 1 ml of a bacterial suspension at an OD₆₀₀ of 0.4 were harvested and lysated with Laemmli buffer. TALE expression was analyzed by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of 4-15% and immunoblotted using the anti-TALE polyclonal antibody produced by (Read et al. 2016) followed by a horseradish peroxidase conjugated rabbit secondary antibody (Sigma-Aldrich). Detection was carried out using the Thermo Scientific™ Pierce™ ECL 2 Western Blotting Substrate kit and a Typhoon™ FLA 9500 (General Electric Healthcare Life Sciences, USA) for imaging.

References

- Anders S, Pyl PT, Huber W (2015) HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* 31:166–169. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTU638>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Axtell MJ (2013) Classification and comparison of small RNAs from plants. *Annu Rev Plant Biol* 64:137–159. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120043>
- Bellincampi D, Cervone F, Lionetti V (2014) Plant cell wall dynamics and wall-related susceptibility in plant-pathogen interactions. *Front. Plant Sci.* 5:228
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512. <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Cardon G, Höhmann S, Klein J, et al (1999) Molecular characterisation of the Arabidopsis SBP-box genes. *Gene* 237:91–104. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00308-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00308-X)
- Chen L-Q (2014) SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. *New Phytol* 201:1150–1155. <https://doi.org/10.1111/NPH.12445>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chitwood DH, Sinha NR (2014) Plant development: Small RNAs and the metamorphosis of leaves. *Curr Biol* 24:R1087–R1089. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.013>
- Cox KL, Meng F, Wilkins KE, et al (2017) TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. *Nat Commun* 8:15588. <https://doi.org/10.1038/ncomms15588>
- Cui H, Tsuda K, Parker JE (2015) Effector-Triggered Immunity: From Pathogen Perception to Robust Defense. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040012> 66:487–511. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ARPLANT-050213-040012>
- Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, et al (2013) STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics* 29:15–21. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTS635>
- Droc G, Dereeper A, Ruiz M, et al (2019) The south green rice genome hub

- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gu K, Sangha JS, Li Y, Yin Z (2008) High-resolution genetic mapping of bacterial blight resistance gene Xa10. *Theor Appl Genet* 116:155–163. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0655-5>
- Gu K, Tian D, Yang F, et al (2004) High-resolution genetic mapping of Xa27(t), a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 108:800–807. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1491-x>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Hakoshima T (2018) Structural basis of the specific interactions of GRAS family proteins. *Febs Lett* 592:489. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12987>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Jacques M-A, Arlat M, Boulanger A, et al (2016) Using Ecology, Physiology, and Genomics to Understand Host Specificity in *Xanthomonas*. *Annu Rev Phytopathol* 54:163–187. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100147>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Kim KN, Cheong YH, Gupta R, Luan S (2000) Interaction Specificity of Arabidopsis Calcineurin B-Like Calcium Sensors and Their Target Kinases. *Plant Physiol* 124:1844–1853. <https://doi.org/10.1104/PP.124.4.1844>
- Klein J, Saedler H, Huijser P (1996) A new family of DNA binding proteins includes putative transcriptional regulators of the *Antirrhinum majus* floral meristem identity gene SQUAMOSA. *Mol Gen Genet* 250:7–16. <https://doi.org/10.1007/BF02191820>
- Kolukisaoglu Ü, Weigl S, Blazevic D, et al (2004) Calcium Sensors and Their Interacting Protein Kinases: Genomics of the Arabidopsis and Rice CBL-CIPK Signaling Networks. *Plant Physiol* 134:43–58. <https://doi.org/10.1104/pp.103.033068>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>
- Lin QJ, Kumar V, Chu J, et al (2021) CBL-interacting protein kinase 31 regulates rice resistance to blast disease by modulating cellular potassium levels. *Biochem Biophys Res Commun* 563:23–30. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.05.065>

- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Love MI, Huber W, Anders S (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol* 15:1–21. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Moscetti I, Faoro F, Moro S, et al (2015) The xylanase inhibitor TAXI-III counteracts the necrotic activity of a *Fusarium graminearum* xylanase in vitro and in durum wheat transgenic plants. *Mol Plant Pathol* 16:583–592. <https://doi.org/10.1111/mpp.12215>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Padmanabhan MS, Ma S, Burch-Smith TM, et al (2013) Novel Positive Regulatory Role for the SPL6 Transcription Factor in the N TIR-NB-LRR Receptor-Mediated Plant Innate Immunity. *PLoS Pathog* 9:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003235>
- Pandey GK, Kanwar P, Pandey A (2014) Global Comparative Analysis of CBL-CIPK Gene Families in Plants. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-09078-8>
- Pérez-Quintero AL, Rodriguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK (2009) edgeR: A Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics* 26:139–140. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Römer P, Recht S, Lahaye T (2009) A single plant resistance gene promoter engineered to recognize multiple TAL effectors from disparate pathogens. *Proc Natl Acad Sci* 106:20526–20531. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0908812106>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Schaad N, Wang Z, Di M, et al (1996) An improved infiltration technique to test the pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice seedlings
- Schorneck S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>

Shi J, Kim KN, Ritz O, et al (1999) Novel Protein Kinases Associated with Calcineurin B–like Calcium Sensors in Arabidopsis. *Plant Cell* 11:2393–2405.
<https://doi.org/10.1105/TPC.11.12.2393>

Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to Xanthomonas oryzae pv. oryzae. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>

Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>

Wang QL, Sun AZ, Chen ST, et al (2018) SPL6 represses signalling outputs of ER stress in control of panicle cell death in rice. *Nat Plants* 4:280–288. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0131-z>

Wang Y, Sun T, Li T, et al (2016) A CBL-Interacting Protein Kinase TaCIPK2 Confers Drought Tolerance in Transgenic Tobacco Plants through Regulating the Stomatal Movement. *PLoS One* 11:e0167962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167962>

Wu L, Mei LG, Sreekala C, 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. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123356>

Xie C, Zhou X, Deng X, Guo Y (2010) PKS5, a SNF1-related kinase, interacts with and phosphorylates NPR1, and modulates expression of WRKY38 and WRKY62. *J Genet Genomics* 37:359–369. [https://doi.org/10.1016/S1673-8527\(09\)60054-0](https://doi.org/10.1016/S1673-8527(09)60054-0)

Xie F, Jones DC, Wang Q, et al (2015) Small RNA sequencing identifies miRNA roles in ovule and fibre development. *Plant Biotechnol J* 13:355–369. <https://doi.org/10.1111/pbi.12296>

Yamasaki K, Kigawa T, Inoue M, et al (2006) An Arabidopsis SBP-domain fragment with a disrupted C-terminal zinc-binding site retains its tertiary structure. *FEBS Lett* 580:2109–2116. <https://doi.org/10.1016/J.FEBSLET.2006.03.014>

Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>

Yu Y, Zhou YF, Feng YZ, et al (2020) Transcriptional landscape of pathogen-responsive lncRNAs in rice unveils the role of ALEX1 in jasmonate pathway and disease resistance. *Plant Biotechnol J* 18:679–690. <https://doi.org/10.1111/pbi.13234>

Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>

Zhong H, Kong W, Gong Z, et al (2019) Evolutionary Analyses Reveal Diverged Patterns of SQUAMOSA Promoter Binding Protein-Like (SPL) Gene Family in *Oryza* Genus. *Front Plant Sci* 0:565. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.00565>

Zhou Y, Chebotarov D, Kudrna D, et al (2020) A platinum standard pan-genome resource that represents the population structure of Asian rice. *Sci Data* 2020 71 7:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41597-020-0438-2>

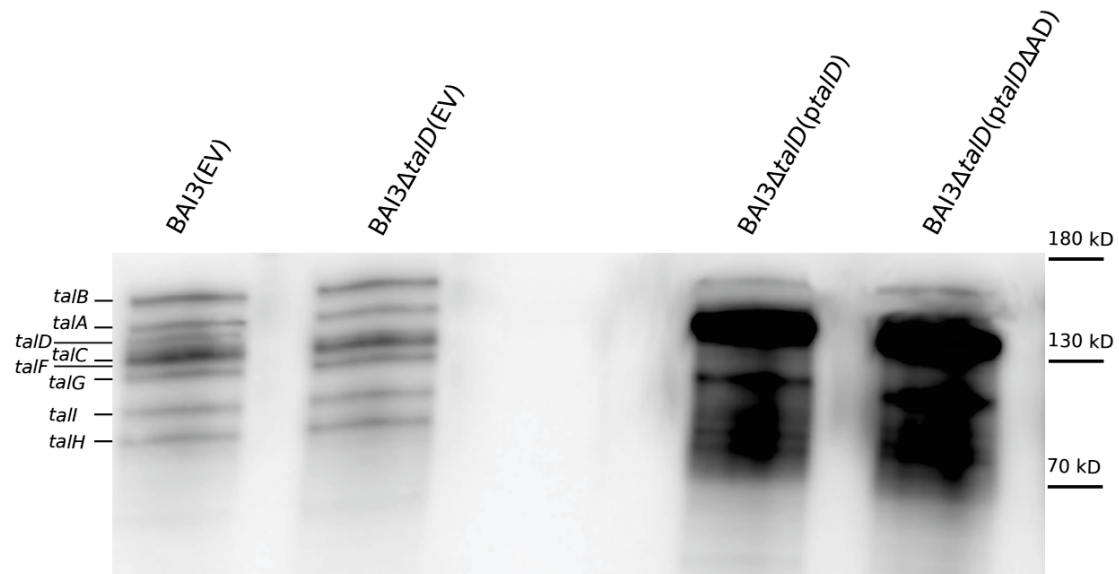


Figure S1. Western blot of total protein extracts of *Xoo* using an anti-TALE polyclonal antibody.

Western blot assay of the *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector (pSKX1_EV), the BAI3Δ*talD* mutant carrying an empty vector (pSKX1_EV), and the BAI3Δ*talD* mutant complemented with *talD* or *talD*ΔAD. The wild type strain BAI3 contains *tal* genes indicated on the left. Molecular weight is indicated on the right.

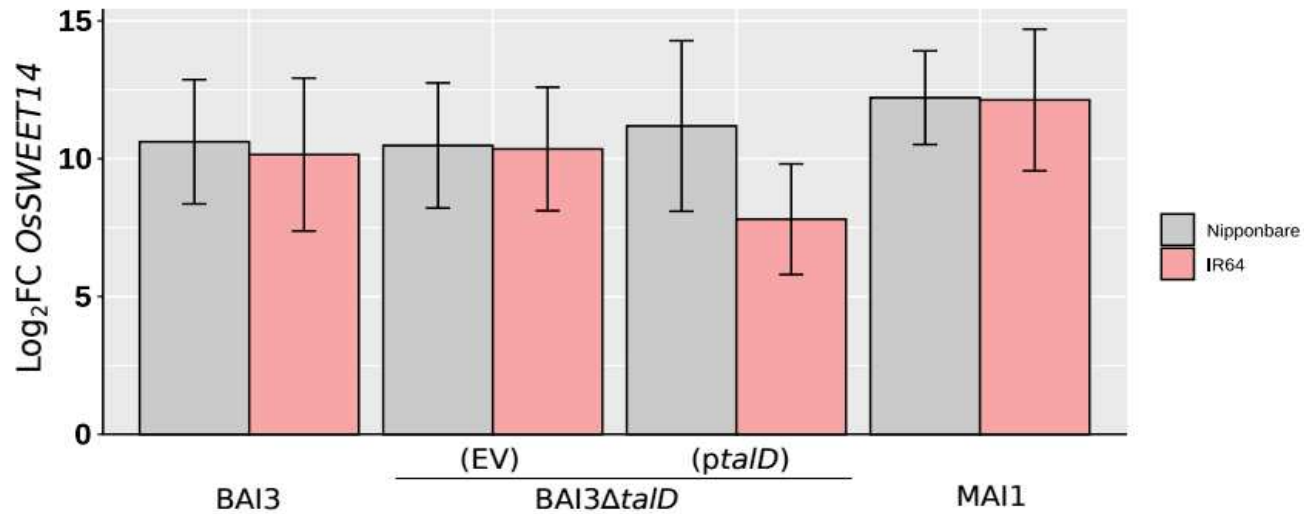


Figure S2. Induction of the susceptibility (*S*) gene *OsSWEET14* in the RNA samples.

Transcript abundance of the virulence target genes *OsSWEET14* was determined by quantitative RT-PCR 24 hours after leaf-infiltration of 3-week-old Nipponbare and IR64 rice varieties with wild-type *Xoo* strains MAI1 and BAI3 the BAI3Δ*talD* mutant complemented with either an empty vector (EV) or *talD* (*ptaID*), and with water as mock control. The fold change was calculated in comparison to leaves treated with water. Actin was used as a reference gene to normalize cDNA amounts. Error bars represent the standard deviation of the mean (SD). Statistical analyses were performed under R software and no significant differences were shown.

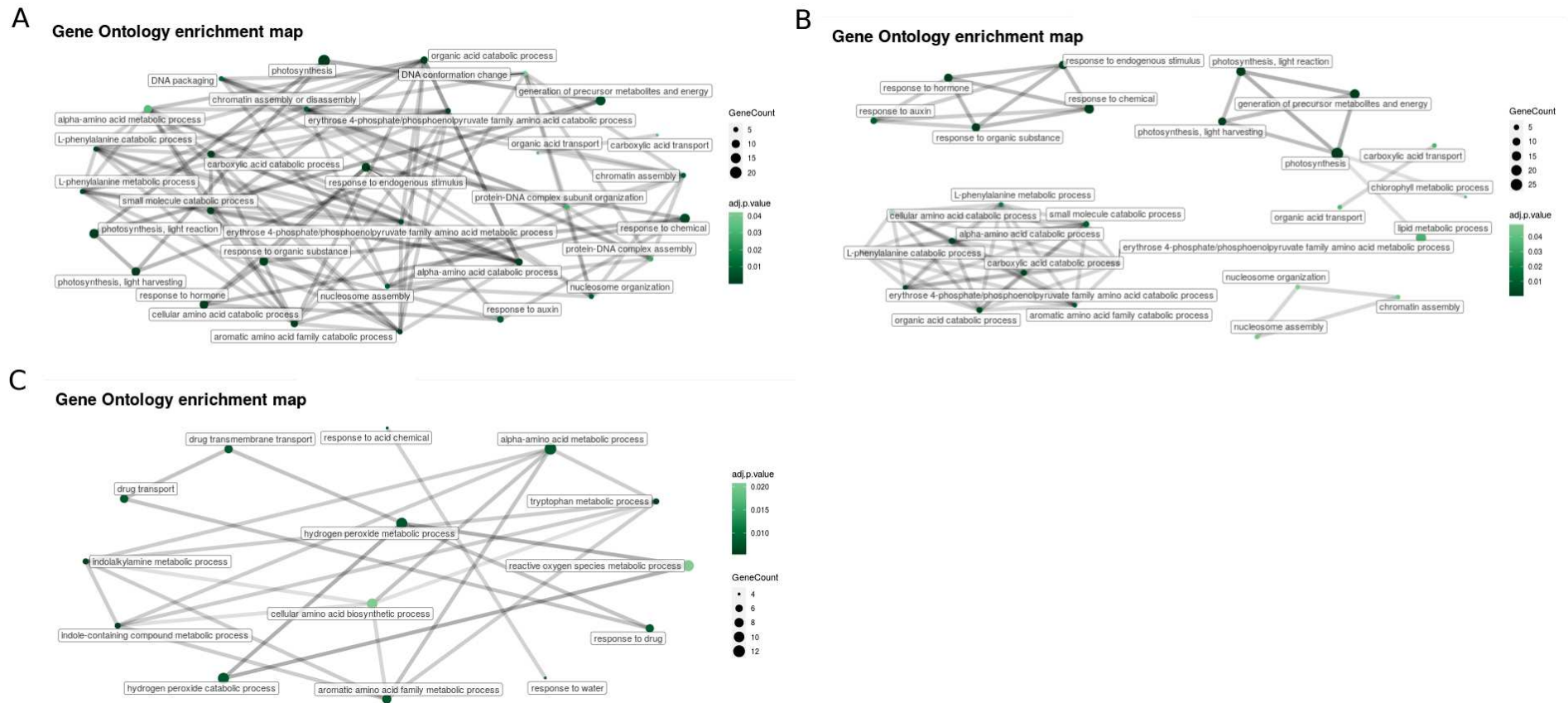


Figure S3. Up- and down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in Nipponbare.

Gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock control, in Nipponbare, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with an adjusted p.value ≤ 0.05 (Droc et al. 2019). Gene ontology of down-regulated genes by MAI1 (A), BAI3 (B) and of up-regulated genes by BAI3 (C).

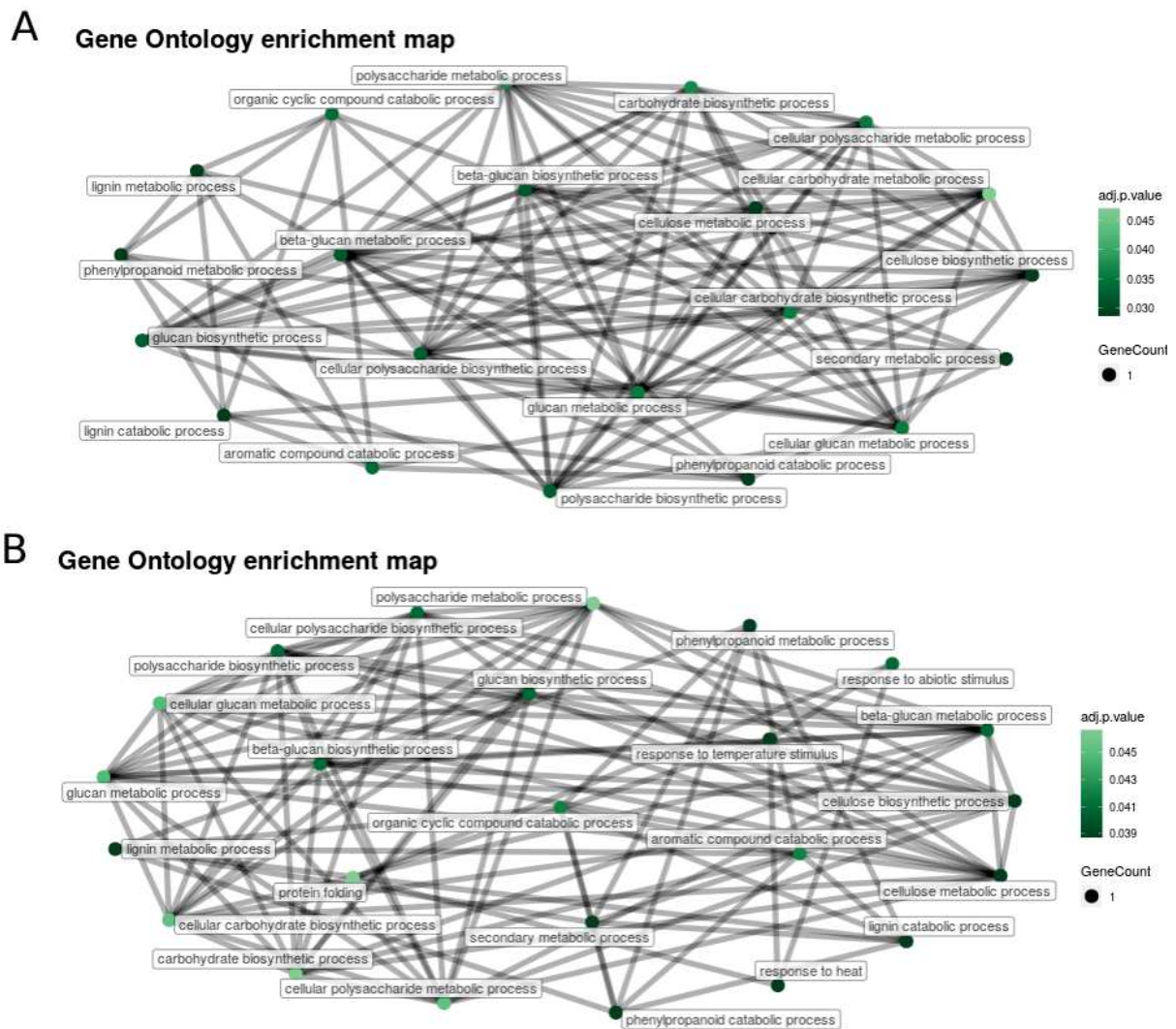


Figure S4. Down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in IR64.

Gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock control, in IR64, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with an adjusted p.value ≤ 0.05 (Droc et al. 2019). LOC_ID from Nipponbare orthologs were used for GO enrichment of IR64 differentially expressed genes. Gene ontology of down-regulated genes by MAI1 (A) and BAI3 (B).

```

OsIR64_03p045980_prot    MEAARVGAQSRHLYGGGLGEPMDRRDKRLLFGWDLNDWRWDSDFVATPVPAEEASGLAL 60
LOC_0s03g61760.1_prot    MEAARVGAQSRHLYGGGLGEPMDRRDKRLLFGWDLNDWRWDSDFVATPVPAEEASGLAL 60
*****

OsIR64_03p045980_prot    NSSPSSSEEAGAASVRNVNARGSDKRKRKRVVVIDDDVEDDELVENGGGSLSLRIGGDAV 120
LOC_0s03g61760.1_prot    NSSPSSSEEAGAASVRNVNARGSDKRKRKRVVVIDDDVEDDELVENGGGSLSLRIGGDAV 120
*****

OsIR64_03p045980_prot    AHGAGVGGGADEEDRNGKKIRVQGGSPGPACQVEGCTADLTGVRDYHRRHKVCEMHAKA 180
LOC_0s03g61760.1_prot    AHGAGVGGGADEEDRNGKKIRVQGGSPGPACQVEGCTADLTGVRDYHRRHKVCEMHAKA 180
*****

OsIR64_03p045980_prot    TTAVVGNTVQRFCCQCSRKSYIVKRRDYYSNDFGSYLLILKNNFRFHPLQEFDEGKRSC 240
LOC_0s03g61760.1_prot    TTAVVGNTVQRFCCQCS-----RFHPLQEFDEGKRSC 212
*****

OsIR64_03p045980_prot    RRRLAGHNRRRRKTRPEVAVGGSFTEDKISSYLLGLLGVCANLNADNAEHLRGQELIS 300
LOC_0s03g61760.1_prot    RRRLAGHNRRRRKTRPEVAVGGSFTEDKISSYLLGLLGVCANLNADNAEHLRGQELIS 272
*****

OsIR64_03p045980_prot    GLLRNLGAVAKSLDPKELCKLLEACQSMQDGSNAGTSETANALVNTAVAEAAAGPSNSKMP 360
LOC_0s03g61760.1_prot    GLLRNLGAVAKSLDPKELCKLLEACQSMQDGSNAGTSETANALVNTAVAEAAAGPSNSKMP 332
*****

OsIR64_03p045980_prot    FVNGDQCGLASSVVPVQSKSPTVATPDPPACKFKDFDLNDTYGGMEGFEDGYEGSPTPA 420
LOC_0s03g61760.1_prot    FVNGDQCGLASSVVPVQSKSPTVATPDPPACKFKDFDLNDTYGGMEGFEDGYEGSPTPA 392
*****

OsIR64_03p045980_prot    FKTTDSPNCPSWMHQDSTQSPQTSGNSDSTSAQSLSSNGDAQWICTSNMLKCCRTDKI 480
LOC_0s03g61760.1_prot    FKTTDSPNCPSWMHQDSTQSPQTSGNSDSTSAQSLSSNGDAQ-----CRTDKI 442
*****

OsIR64_03p045980_prot    VFKLFEKVPSDLPPVLRSQLGLWSSSPTDIESYIRPGCIILTVYLRLVESAWKELSDNM 540
LOC_0s03g61760.1_prot    VFKLFEKVPSDLPPVLRSQLGLWSSSPTDIESYIRPGCIILTVYLRLVESAWKELSDNM 502
*****

OsIR64_03p045980_prot    SSYLDKLLNSSTGNFWASGLVFMVRHQIAFMHNGQLMLDRPLANSAHHYCKILCVRPIA 600
LOC_0s03g61760.1_prot    SSYLDKLLNSSTGNFWASGLVFMVRHQIAFMHNGQLMLDRPLANSAHHYCKILCVRPIA 562
*****

OsIR64_03p045980_prot    APFSTKVNFRVEGLNLVSDSSRLICSFEGSCIFQEDTDNIVDDVEHDDIEYLNFCCLPLS 660
LOC_0s03g61760.1_prot    APFSTKVNFRVEGLNLVSDSSRLICSFEGSCIFQEDTDNIVDDVEHDDIEYLNFCCLPLS 622
*****

```

Figure S5. Clustal Omega protein alignment of OsSPL6 protein.

Amino-acid alignment of OsSPL6 protein between the genome sequences of IR64 and Nipponbare varieties was realized under Clustal Omega platform (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Dashe significates a missing amino-acid, "*" indicates it is the same amino-acid.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>			
MAI1	Malian strain race A3	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3	Burkinabe strain race A1	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3 Δ <i>talD</i> (EV)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	Lachaux et al., in prep
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i>)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	Lachaux et al., in prep
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i> Δ Δ AD)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> Δ Δ AD gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	This study
Plasmids			
pSKX1	Empty vector used for <i>talE</i> gene expression, in BAI3	Gentamicin	Streubel et al., 2013
<i>ptalD</i>	pSKX1 plasmid carrying <i>talD</i> used for the complementation of the BAI3 Δ <i>talD</i> mutant	Gentamicin	Lachaux et al., in prep
<i>ptalD</i> Δ Δ AD	pSKX1 plasmid carrying <i>talD</i> Δ Δ AD used for the transformation of the BAI3 Δ <i>talD</i> mutant	Gentamicin	Lachaux et al., in prep

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

Discussion générale

I. Le rôle central des effecteurs de type TAL dans le genre *Xanthomonas*

Les TALE étant des facteurs de virulence majeurs au sein de nombreuses espèces du genre *Xanthomonas*, les plantes hôtes ont développé au cours du temps différents subterfuges pour utiliser ces derniers contre le pathogène lui-même. Qualifiés alors de facteurs d'avirulence, les TALE se retrouvent à induire l'expression de gènes dits exécuteurs, promouvant des réactions de résistance de la plante (Zhang et al. 2015). Avant les études menées au cours de cette thèse, aucun gène d'avirulence n'avait encore été identifié chez des souches Africaines de *Xoo*, c'est pourquoi l'identification chez une souche Africaine de *Xoo*, durant ces travaux, de quatre gènes *tal* candidats ayant une activité d'avirulence, et la confirmation pour deux d'entre eux, a permis une grande avancée dans la caractérisation des effecteurs TAL Africains. Nous avons par ailleurs démontré que les domaines d'activation de la transcription de TalI et TalD étaient nécessaires à la réaction de résistance, suggérant donc l'induction de gènes exécuter. A ce jour, tous les gènes d'avirulence connus chez *Xoo* codent pour des effecteurs TAL (Tableau 5), à l'exception de *raxX* qui code pour un petit peptide sulfaté qui se lie directement avec une grande affinité au récepteur kinase (RLK-LRR) XA21 (Pruitt et al. 2015; Luu et al. 2019). Ainsi, les résultats obtenus au cours de cette thèse mettent en avant, une fois de plus, l'importance des TALE dans l'interaction avec leur hôte, et confirment qu'aborder la recherche de résistance à *Xanthomonas* en utilisant les TALE comme sonde est une approche fiable.

En 2000, Yang et ses collaborateurs démontrent que la région centrale des TALE permet à ces derniers de se lier à l'ADN et détermine les gènes ciblés (Yang et al. 2000). Quelques années plus tard, la découverte du code régissant la fixation des TALE à l'ADN s'en suit (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) et promeut la création de multiples logiciels de prédiction d'EBE, tels que TALE-NT et Talvez (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013) parmi tant d'autres, favorisant par la suite l'identification de plusieurs gènes cibles. Le mécanisme de fixation des TALE étant de plus en plus étudié, on découvre que ces derniers sont capables d'induire des gènes en ciblant des EBE situées aussi sur le brin opposé (Wang et al. 2017). En 2019, un nouveau logiciel, nommé PrediTALe, prend en compte la dépendance putative entre les RVD adjacents et celle entre le premier RVD et la position zéro de la boîte cible (EBE), pour améliorer les prédictions de gènes ciblés (Erkes et al. 2019). Récemment, Erkes et ses collaborateurs étendent les capacités de cet outil afin qu'il prenne en compte l'accessibilité de la chromatine et l'état de méthylation de l'ADN pour la prédiction des boîtes cibles (Erkes et al. 2021).

Gène <i>avr</i>	Protéine <i>Avr</i>	Gène <i>R</i>	Caractéristique	Protéine <i>R</i>	Hôte	Pathogène	Référence
<i>pthXo1 / tal4 / tal9d</i>	Effecteur TAL	<i>Xa1</i> et ses allèles (<i>Xo1</i> , <i>Xa2</i> , <i>Xa14</i> , <i>Xa31</i> , <i>Xa45</i>)	NB-LRR reconnaît les TALE indépendamment de leur séquence en RVD	Protéine NB-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Yoshimura et al. 1998; Triplett et al. 2016; Zhang et al. 2020; Ji et al. 2020)
<i>avrxa5 / pthXo7</i>	Effecteur TAL	<i>xa5</i>	Allèle de perte de S	Facteur de transcription TFIIA γ	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Jian.get et al. 2006; Sugio et al. 2007; Zou et al. 2010)
<i>pthXo1</i>	Effecteur TAL	<i>xa13</i> (<i>OsSWEET11</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Chu et al. 2006; Yang et al. 2006)
<i>pthXo2</i>	Effecteur TAL	<i>xa25</i> (<i>OsSWEET13</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Liu et al. 2011; Zhou et al. 2015)
<i>avrXa7 / pthXo3 / talC / talF_{MAII}</i>	Effecteur TAL	<i>xa41</i> (<i>OsSWEET14</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Antony et al. 2010; Yu et al. 2011; Streubel et al. 2013; Hutin et al. 2015)
<i>avrXa7 / pthXo3</i>	Effecteur TAL	<i>Xa7</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire, putative	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Chen et al. 2021; Luo et al. 2021)
<i>avrXa10</i>	Effecteur TAL	<i>Xa10</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire localisée au niveau du RE	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Tian et al. 2014)
<i>avrXa23</i>	Effecteur TAL	<i>Xa23</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire, putative	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Wang et al. 2015a)
<i>avrXa27</i>	Effecteur TAL	<i>Xa27</i>	Gène exécuteur	Protéine sécrétée dans l'apoplaste	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Zhang et al. 2015)
<i>TalI</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Lachaux et al. in prep)
<i>TalD</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Lachaux et al. in prep)
<i>avrXa3</i>	Effecteur TAL	<i>Xa3/Xa26</i>		récepteur RLK-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Li et al. 2004; Sun et al. 2004; Xiang et al. 2006)
<i>RaxX</i>	Peptide sulfaté	<i>Xa21</i>		récepteur RLK-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Pruitt et al. 2015)
Inconnu	Indéterminée	<i>Xa4</i>		Kinase associée à la paroi cellulaire / famille de récepteur RLK	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Hu et al. 2017)
<i>avrBs4C</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4C-R</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire localisée au niveau du RE	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Strauss et al. 2012)
<i>avrBs1</i>	Protéine de 50 kDa	<i>Bs1</i>	Résistance aux races 0, 2 et 5	Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Cook and Guevara 1984; Ronald and Staskawicz 1988) (Escolar et al. 2001)
<i>avrBs2</i>	Protéine avec un domaine glycérolphosphodiesterase (GDE) conservé	<i>Bs2</i>	Résistance aux races 0 à 3, 7 et 8	Protéine NB-LRR	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Minsavage 1990; Tai et al. 1999)
<i>avrBs3</i>	Effecteur TAL	<i>Bs3</i>	Gène exécuteur / Résistance aux races 0, 1, 4, 7 et 9	Protéine de la famille des " flavin-dépendant mono-oxygenase", sous-classe YUCCA, putative	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Bonas et al. 1989; Römer et al. 2007)
<i>avrHah1</i>	Effecteur TAL	<i>Bs3</i>	Gène exécuteur	Protéine de la famille	Poivron	<i>X. gardneri</i>	(Römer et al. 2007;

				des " flavin-dependant mono-oxygenase", sous-classe YUCCA, putative			Schornack et al. 2008)
Inconnu	Indéterminée	<i>bs5 / bs6</i>	Résistances récessives, combinées donne résistance complète aux races 0 à 10	Non déterminées	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Vallejos et al. 2010)
<i>avrBsT (xopJ2)</i>	Protéine de 39 kDa	<i>BsT</i>		Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Escolar et al. 2001)
<i>avrBs7</i>	Effecteur <u>Xop</u>	<i>Bs7</i>		Protéine avec un domaine tyrosine-phosphatase	Poivron	<i>X. gardneri</i>	(Potnis et al. 2012)
<i>avrBs1,1</i> (homologue <i>avrBs7</i>)	Effecteur Xop	Possiblement <i>Bs7</i>		Protéine avec un domaine tyrosine-phosphatase	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Potnis et al. 2012)
<i>avrRxv (xopJ4)</i>	Effecteur de la famille XopJ	Inconnu		Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Osdaghi et al. 2021)
<i>avrXv4 (XopJ4)</i>	Effecteur de la famille XopJ	Inconnu		Non déterminée	Tomate	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>perforans</i>	(Osdaghi et al. 2021)
<i>avrBs4</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Bonas et al. 1993; Schornack et al. 2004)
<i>hax3</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. campestris</i> pv. <i>armoraciae</i>	(Schornack et al. 2004; Kay et al. 2005)
<i>hax4</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. campestris</i> pv. <i>armoraciae</i>	(Schornack et al. 2004; Kay et al. 2005)
<i>pthA4^{AT}</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Agrumes	<i>X. citri</i> pv. <i>citri</i>	(Roeschlin et al. 2019)
<i>avrGf1/avrGf2</i>	Effecteur de la famille XopAG	Inconnu		Non déterminée	Agrumes	<i>X. citri</i> pv. <i>citri</i>	(Ri et al. 2018)
<i>avrXg1</i>	Effecteur TAL	Inconnu	Donne résistance à la race 3	Non déterminée	Soja	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>	(Athinuwat et al. 2009)

Tableau 5. Gènes d'avirulence et gènes de résistance au sein du genre *Xanthomonas* chez différents pathosystèmes.

Les TALE sont des effecteurs polyvalents développés par l'agent pathogène afin de cibler différentes séquences promotrices du génome de la plante hôte et induire une diversité de gènes cibles. Ces dernières années le domaine central de liaison à l'ADN des TALE a largement été étudié, mais la façon dont la machinerie de transcription de l'hôte est recrutée et si d'autres éléments sont nécessaires à ce mécanisme est une question qui subsiste. Les effecteurs TAL nous réservent encore bien des surprises, telles que de nouvelles cibles de résistance ou de sensibilité, de nouveaux dispositifs d'action pour lutter contre les réponses de défense de la plante (e.g. iTALE/truncTALE). Ainsi, afin de mieux comprendre ces mécanismes et pouvoir davantage contrôler la résistance, approfondir les études sur les TALE est nécessaire, et nous savons qu'un long chemin reste à parcourir.

II. Quelle est la meilleure approche pour identifier des gènes de résistance à *Xanthomonas* ?

A ce jour, il existe plusieurs catégories de gènes de résistance connus pour être induits par *Xanthomonas*. Par exemple, parmi les 12 gènes de résistance à *Xoo* qui ont été clonés, 9 induisent des résistances TALE-dépendantes. Ces dernières se regroupent en trois catégories: i) les résistances récessives provenant d'une perte de sensibilité, dues au polymorphisme de l'EBE au sein du promoteur d'un gène *S*, rendant ce dernier non-inductible par le TALE correspondant, ii) les résistances qui dépendent de l'induction d'un gène *R* par un TALE (gène *E*), et sans oublier iii) les résistances liées à l'activité de gènes *R* de la famille des NB-LRR.

En sachant que l'expression des gènes ciblés par les TALE est modifiée lors de l'interaction plante-pathogène (Strauß et al. 2012), et grâce à la découverte du code TALE-ADN (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009), de nombreuses approches de transcriptomique combinées à de la prédiction de cibles *in silico* ont pu être entreprises afin d'identifier de nouveaux gènes ciblés par les TALE dans différentes plantes hôtes. En 2012, une étude pionnière combinant une approche de RNAseq à des analyses de prédictions d'EBE a conduit à l'isolement chez la tomate du gène de résistance *Bs4C* ; le premier gène exécuteur identifié par approche de transcriptomique, induit par le TALE AvrBs4 de *X. euvesicatoria* (Strauß et al. 2012). L'analyse de transcriptome est une approche qui permet de détecter les gènes différentiellement exprimés et par conséquent les gènes potentiellement ciblés par les TALE. Cette approche permet aussi d'observer le changement d'expression d'un ensemble de gènes dérivant de cette cascade d'induction TALE-dépendante. Toutefois, l'approche RNAseq a ses limites, et bien que les gènes *E Bs4C* et *Xa7* (Strauß et al. 2012; Luo et al. 2021) aient été identifiés par cette voie, à ce jour, le profil d'expression des gènes *E* est encore peu étudié et peu compris; et si le profil d'expression, en intensité et au cours du temps, des gènes *E* est similaire, ou non, à celui des gènes *S*, qui sont fortement dérégulés, reste encore à être

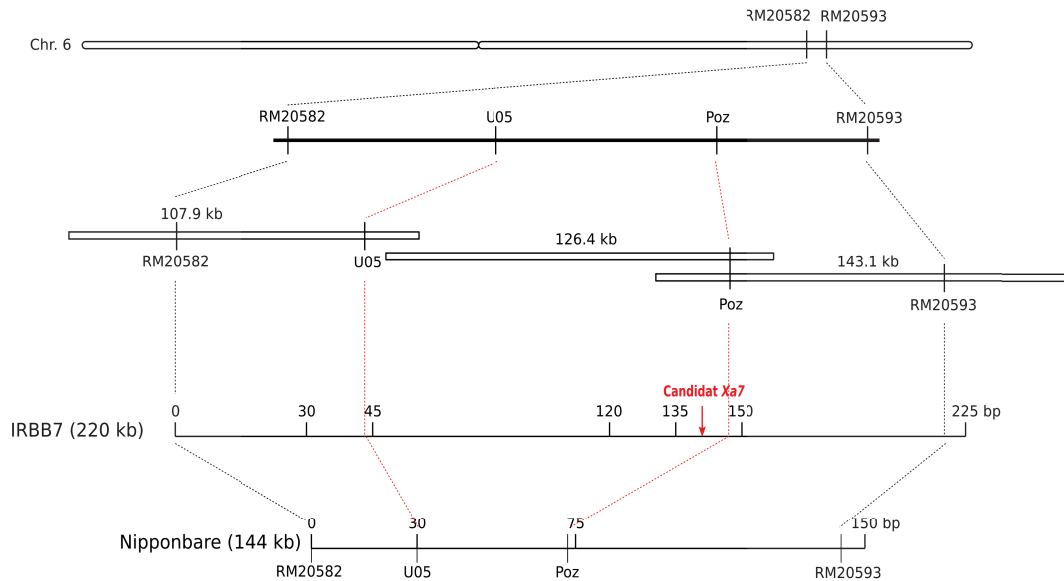


Figure 22. Cartographie fine du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Wang et al. 2021).

Les lignes verticales représentent les sites des principaux marqueurs de la carte physique. Les contigs BAC IRBB7 sont représentés par des rectangles non remplis qui se chevauchent. La région entre les lignes pointillées rouges représente la région *Xa7* cartographiée, qui est flanquée par les marqueurs U05 et Poz.

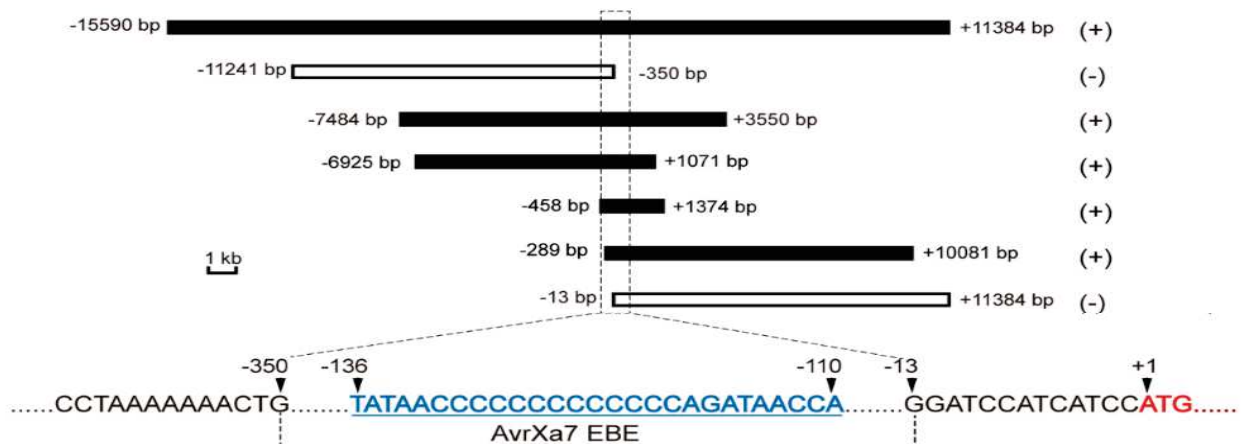


Figure 23. Complémentation fonctionnelle du gène candidat *Xa7*. D'après (Wang et al. 2021).

Les sous-clones TAC utilisés pour la transformation du riz sont indiqués par des rectangles vides et remplis. Les rectangles vides représentent les sous-clones générant des lignées transgéniques sensibles, tandis que les rectangles pleins représentent les sous-clones générant des lignées transgéniques résistantes. Les informations positionnelles des fragments insérés sont indiquées à côté des rectangles. Les chiffres négatifs indiquent une distance en amont du site d'initiation du codon ATG pour le gène candidat, tandis que les chiffres positifs indiquent une distance en aval de celui-ci. Les sous-clones qui ont produit un riz transgénique résistant à la BLB sont marqués par (+), sinon par (-).

démonstré. Il est possible que l'expression, même faible, d'un gène toxique pour la plante soit suffisante pour empêcher la bactérie de se multiplier. En outre, la combinaison d'un gène *E*, même exprimé faiblement, avec d'autres gènes pourrait permettre d'établir une résistance au sein de la plante hôte. La résistance quantitative se traduit par l'effet cumulé de plusieurs gènes (St.clair 2010), ce qui pourrait d'un point de vue transcriptomique se manifester par un ensemble de gènes faiblement dérégulés. Par ailleurs, certains types de résistances comme celles reposant sur le gène *Bs4*, codant pour un NB-LRR constitutivement induit chez la tomate, ainsi que les gènes non-exécuteurs *Xa4*, *Xa21* et *Xa3/Xa26*, codant pour des protéines de la famille des RLK chez le riz, ne peuvent donc pas être mises en évidence par des approches de type RNAseq. Ces gènes de résistance n'appartenant pas à la famille des gènes *E* ont d'ailleurs été identifiés par une approche de cartographie génétique (Song et al. 1995; Yoshimura et al. 1998; Ballvora et al. 2001; Sun et al. 2003, 2004). Ce genre d'approche est utilisé depuis de nombreuses années pour caractériser, entre autres, des sources de résistance à divers pathogènes. Par exemple, des populations de double-haploïdes dérivant du croisement F_1 entre IR64 et Azucena ont permis la mise en évidence de plusieurs QTL conférant la résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV pour "Rice Yellow Mottle Virus"), ainsi qu'à la pyriculariose, dont l'agent pathogène est *M. oryzae* (Albar et al. 1998; Sallaud et al. 2003). De plus, une population de lignées dite MAGIC (pour "Multi-parent Advanced Generation Inter-Cross") provenant du croisement de huit variétés de riz *indica*, a permis d'identifier 18 QTL de résistance à *Xoo* (Huerta et al. 2021). Dans le contexte de cette thèse nous avons décidé de nous appuyer sur des analyses de cartographie génétique reposant sur le criblage d'une population de lignées recombinantes (RIL pour "Recombinant Inbred Lines") de génération F_{11} , provenant du croisement entre les variétés IR64 et Azucena. Ce criblage avait pour but de caractériser la résistance induite chez IR64 par MAI1 et BAI3. L'un des avantages de la cartographie est que cette approche sans a priori permet de mettre en lumière diverses sources de résistance qui, nous concernant, pourraient être TALE et non-TALE dépendantes.

Récemment, le gène exécuteur *Xa7*, provoquant la résistance du riz aux souches de *Xoo* porteuses des TALE AvrXa7 et PthXo3, a été cloné par plusieurs équipes simultanément (Chen et al. 2021; Luo et al. 2021; Wang et al. 2021). L'identification de *Xa7*, sur le chromosome 6, par ces équipes a commencé par une approche de cartographie il y a plus de 10 ans de cela (Porter et al. 2003; Chen et al. 2008; Zhang et al. 2009). Wang et ses collaborateurs ont par la suite utilisé une banque de clones BAC, couvrant l'intervalle révélé par les études de cartographie fine, ce qui leur a permis de mettre en lumière l'insertion d'une séquence d'environ 100 kb entre le génome de référence Nipponbare et la lignée quasi-isogénique IRBB7, comportant la région où se situe *Xa7* (Figure 22). Au sein de ces 100 kb, 35 ORF ("open reading frames") étaient prédites. En utilisant le logiciel de

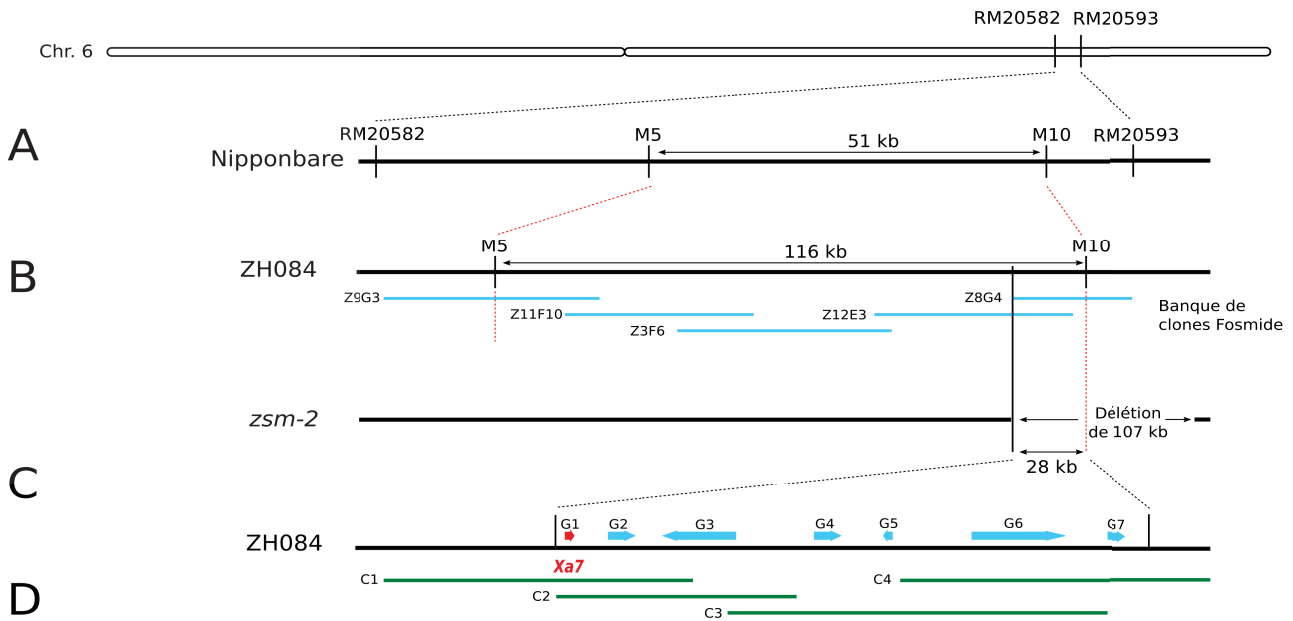


Figure 24. Clonage positionnel du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Chen et al. 2021).

(A) Carte physique de la région contenant *Xa7* sur le chromosome 6 du riz basée sur le génome de référence de Nipponbare. (B) Carte physique de la région contenant *Xa7* basée sur la variété de riz Zhen-hui 084 (ZH084). La carte a été construite en utilisant des contigues de clones isolés à partir de la bibliothèque génomique de la variété correspondante. (C) La région de chevauchement de 28 kb entre la région de cartographie de *Xa7* de 116 kb et la délétion de 107 kb dans un mutant sensible à la BLB, *zsm-2*, dont le fond génétique est celui de la variété ZH084. Les gènes prédits (G1 à G7) dans la région de chevauchement de 28 kb. (D) Les positions des quatre fragments (C1 à C4) utilisés pour la transformation de complémentation fonctionnelle dans Zhonghua 11 (ZH11), variété sensible à la BLB.

prédiction d'EBE TALgetter (Grau et al. 2013), deux boîtes cibles pour le gène d'avirulence *avrXa7* ont été prédites, dont l'une se trouvait à 110 pb du codon d'initiation d'un gène candidat (Figure 22). Wang et ses collaborateurs ont décidé par la suite de valider ce candidat par une approche de gain-de-fonction consistant à transformer une variété de riz sensible à *Xoo* avec des clones comportant chacun une séquence, alliant le promoteur et/ou le gène candidat, de taille variable (Figure 23; Wang et al. 2021). D'un autre côté, la stratégie utilisée par Chen et ses collaborateurs, après avoir réduit l'intervalle de cartographie à 51 kb chez Nipponbare (Figure 24.A), a été de construire une banque de fosmides; chaque construction pouvant contenir jusqu'à 40 kb du génome de la variété résistante, Zhen-hui 084, portant *Xa7*. Après criblage par PCR de chaque fosmid, cinq clones ont été sélectionnés pour couvrir la totalité de la région *Xa7* (Figure 24.B). Contrairement à l'intervalle de 51 kb révélé chez Nipponbare, la région comportant *Xa7* chez Zhen-hui 084 était de 116 kb, et identique à cette même région chez IRBB7. Par la suite, une banque de mutants composée de plus de 20 000 lignées Zhen-hui 084 a été criblée, et parmi ces dernières une seule possédant une délétion de 107 kb dans la région *Xa7* s'est révélée être sensible aux souches de *Xoo* portant l'effecteur *AvrXa7* (Figure 24.C). En croisant les séquences des 116 kb révélés par les analyses de cartographie fine avec les 107 kb de délétion dans la lignée mutante (*zsm-2*), 28 kb se superposaient et révélèrent 7 gènes candidats (Figure 24.C). Chen et ses collaborateurs entreprirent alors la complémentation fonctionnelle d'une variété sensible à *Xoo* avec chacun de ces gènes candidats, ce qui les mena à l'identification de *Xa7* (Figure 24.D; Chen et al. 2021). Dans le cas de Luo et ses collaborateurs, les analyses de cartographie réduisant l'intervalle à 41 kb et 74 kb, respectivement chez Nipponbare et IRBB7, ont été suivies d'une approche de séquençage d'ARN nommée RAMPAGE (pour "RNA Annotation and Mapping of Promoters for the Analysis of Gene Expression") qui combine l'annotation des ARNm avec la cartographie de leur promoteur respectif (Figure 25.A; (Batut and Gingeras 2013; Raborn and Brendel 2019)). Par la suite, la création de mutations via la technologie CRISPR-Cas9 dans le gène candidat, mis en avant par la précédente analyse dans la variété NB7, qui provient du croisement entre Nipponbare et IRBB7, a permis de valider l'implication de ce dernier dans la résistance à *Xoo* (Figure 25.B). Pour terminer, Luo et ses collaborateurs ont mis en évidence, via les logiciels de prédiction d'EBE, Talvez et TALE-NT (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), une boîte cible pour chacun des TALE de *Xoo* *AvrXa7* et *PthXo3*, connus pour induire la résistance dans les variétés porteuses de *Xa7* (Hopkins et al. 1992; Luo et al. 2021).

En résumé, il s'avère qu'une combinaison des différentes approches énoncées ci-dessus semble être la solution idéale afin de parvenir à l'identification de gènes de résistance. C'est pourquoi, de notre côté nous avons tenté d'utiliser une stratégie similaire à Luo et ses collaborateurs, en combinant les analyses de cartographie, avec celles de transcriptomique ainsi qu'avec des prédictions d'EBE pour

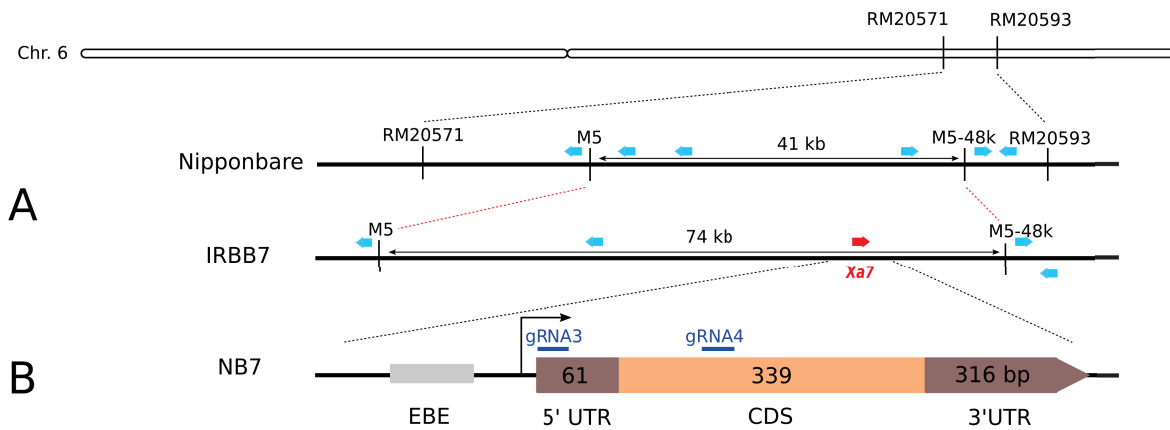


Figure 25. Cartographie fine et identification du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Luo et al. 2021). (A) Carte physique du locus *Xa7* et des marqueurs associés sur le chromosome 6. Régions génomiques délimitées par deux marqueurs (M5 et M5-48k) dans Nipponbare et IRBB7. Les gènes annotés dans Nipponbare et IRBB7 sont indiqués par des flèches bleues, et par une flèche rouge pour le gène candidat *Xa7*. (B) Représentation schématique de *Xa7*. La structure du gène est représentée par une boîte cible (EBE) pour Avr*Xa7*, un 5' UTR pour la région non traduite 5', 3' UTR pour la région non traduite 3', puis la séquence codante (CDS).

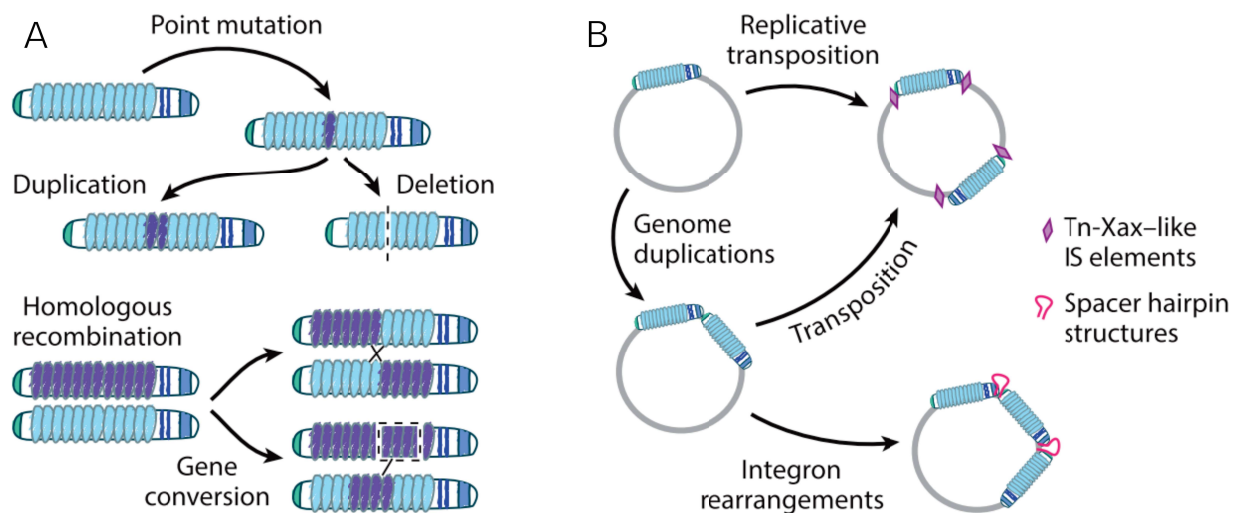


Figure 26. Mécanismes d'évolution des effecteurs TAL. D'après (Perez-Quintero and Szurek 2019) (A) Mécanismes décrits générant une variation de la séquence de répétition dans les TALE. (B) Représentation des mécanismes décrits générant des réarrangements génomiques des TALE. Séquence d'insertion (IS).

TalD, afin d'affiner la liste de gènes candidats. Cependant, ce travail de recherche de gènes candidats reste laborieux, en partie car nous n'avons pas encore assez de recul sur le profil d'expression des gènes impliqués dans une résistance quantitative, type de résistance qui semble être induite par BAI3 chez IR64. Il se peut que le potentiel gène *E* induit par TalD ne soit que faiblement dérégulé, mais que ceci soit suffisant pour que son action cumulée avec celles des autres QTL mis en avant par BAI3 provoquent une diminution des symptômes.

III. La course aux armements: quelles sont les stratégies évolutives mises en place par la plante et la bactérie pour survivre ?

a) Evolution des gènes de résistance chez les plantes : les NB-LRR

Le nombre de NB-LRR au sein des génomes végétaux varie fortement, allant de quelques dizaines chez le kiwi et la papaye (González et al. 2015; Zhang et al. 2016; Baggs et al. 2017), à plusieurs milliers chez le blé (Andersen and Nepal 2019). Dans certains cas, l'adaptation aux pathogènes est un des facteurs qui conduit à la diversification des NB-LRR au sein d'une même espèce, comme cela a été observé chez *A. thaliana* (Van de Weyer et al. 2019) et chez *Solanum pennellii* (la tomate sauvage) (Stam et al. 2016, 2019). Les protéines de résistance peuvent fonctionner directement ou indirectement comme des récepteurs de protéines effectrices sécrétées par les agents pathogènes dans les cellules hôtes (Dangl et al. 2013; Cesari et al. 2014). Pour éviter d'être détectés, les effecteurs évoluent rapidement par perte de gènes et/ou par mutation. Afin de contrer cette évolution les plantes ont développé des processus qui permettent de maintenir la diversité des NB-LRR et de déployer des "pièges à pathogènes" efficaces. Mais comment cette diversification des NB-LRR peut-elle être réalisée dans un court laps de temps évolutif ? Une partie de l'expansion des CNL (ou CC-NB-LRR pour "Coiled-Coil Nucleotide-Binding Leucine-Rich-Repeat") chez les Solanacées et les Poacées a été attribuée à l'activité des rétrotransposons à longue répétition terminale (LTR) (Kim et al. 2017). Par ailleurs, la nature répétitive des protéines NB-LRR elles-mêmes leur permet d'évoluer en utilisant i) leur capacité de recombinaison promouvant ainsi la conversion des gènes (Mondragon-Palomino and Gaut 2005; Serra et al. 2018), et ii) la machinerie de réplication pour les duplications locales (Leister 2004). Cependant, les conversions et la duplication de gènes ne suffisent pas à elles seules pour générer une nouvelle reconnaissance des pathogènes. Les recombinaisons inter- et intra- géniques, ainsi que les mutations ponctuelles (Mago et al. 2015; Lu et al. 2016), jouent un rôle majeur dans la diversification des NB-LRR.

Dans le cadre de cette thèse nous avons identifié plusieurs allèles apparents de *Xa1*, un NB-LRR provoquant de la résistance contre les souches de *Xoo* Africaines. Il s'avère que l'un d'entre eux, *Xo1*, se situe dans une région riche en NB-LRR (Read et al. 2020). Des études sur le gène de

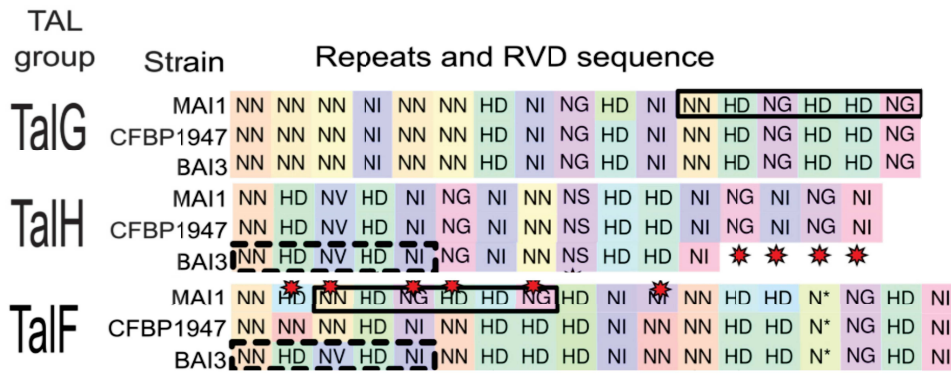


Figure 27. Recombinaison de RVD entre les effecteurs TAL des souches MAI1 et BAI3. D'après (Tran et al. 2018)

Les séquences RVD sont indiquées pour chaque variante d'effecteur TAL de chaque souche. Les couleurs de fond pour les RVD représentent des séquences répétées de nucléotides uniques, et les couleurs similaires indiquent des séquences répétées similaires au niveau des nucléotides, comme déterminé par l'alignement Needleman-Wunsch. Les étoiles rouges indiquent les polymorphismes des RVD au sein d'un locus. Les rectangles à lignes pleines mettent en évidence les répétitions partagées par TalF_{MAI1} et TalG_{MAI1}. Les rectangles en pointillés mettent en évidence les répétitions communes à TalF_{BAI3} et TalH_{BAI3}.

résistance à la rouille des feuilles, *Lr21*, montrent que l'allèle fonctionnel de ce dernier est une chimère de deux haplotypes *lr21* non fonctionnels (H1, H2) (Huang et al. 2009). Le gène de résistance fonctionnel *Lr21* peut être reconstitué expérimentalement par recombinaison intramoléculaire des haplotypes non-fonctionnels H1 et H2, ce qui indique que de nouveaux gènes de résistance fonctionnels pourraient avoir évolué, à l'origine chez les espèces sauvages, par recombinaison d'haplotypes non fonctionnels existants (Krattinger and Keller 2016). Sachant cela, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'un mécanisme similaire a pu se produire pour la création de *Xa1* et de ses allèles apparents, expliquant le nombre varié de répétitions de chacun des allèles. Cette hypothèse fait sens si l'on tient compte que l'un de ces allèles, *Xo1*, a été identifié dans une zone du génome riche en gènes codant pour des NB-LRR, ce qui pourrait favoriser les recombinaisons intergéniques (Read et al. 2020).

b) Evolution des gènes *tal* chez *Xanthomonas*

L'une des principales forces motrices de l'évolution des TALE est la modification des promoteurs de la plante hôte visant à éviter l'activation des gènes de sensibilité situés sous leur contrôle, ou de permettre l'activation des gènes de résistance de type exécuteur. Ainsi, du côté de la bactérie des modifications au niveau de la séquence en RVD des TALE sont apportées permettant de rétablir l'activation des gènes de sensibilité ou d'éviter celle des gènes de résistance (Hutin et al. 2015). D'un point de vue mécanistique, les comparaisons de séquences des gènes *tal* ont montré que des évènements de recombinaison, des mutations ponctuelles (affectant les RVD), de la duplication et des insertions/délétions peuvent se produire au niveau des répétitions des gènes *tal* (Figure 26.A; (Erkes et al. 2017; Schandry et al. 2018). Cependant, des évènements de recombinaison peuvent aussi avoir lieu en dehors des répétitions (Denancé et al. 2018). Selon plusieurs études, la délétion/duplication des répétitions proviendrait d'erreurs de réplication en raison du haut degré de conservation des répétitions, ce qui pourrait entraîner la formation de boucles dans la fourche de réplication (Erkes et al. 2017), ou d'un mauvais appariement des brins glissés (Schandry et al. 2018). Les réarrangements génomiques des gènes *tal* seraient aussi dus à des mécanismes de transposition utilisant par exemple des séquences d'insertion (IS), des transposons de type Tn3 ou Tn*Xax1*, ou encore des intégrons (Figure 26.B; (Ferreira et al. 2015; Erkes et al. 2017; Ruh et al. 2017). Un exemple de recombinaisons inter-géniques entre les répétitions de différents *tal* de *Xanthomonas* est retrouvé avec les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, dont le groupe TalF possède certains RVD qui auraient recombinaison avec le groupe TalH et TalG (Figure 27 ; (Tran et al. 2018). Il a été proposé que les protéines contenant des répétitions soient très instables d'un point de vue évolutif car elles sont soumises à des taux de mutation très élevés lors des recombinaisons, ce qui entraîne des changements dans le nombre et l'ordre des répétitions (Mesarich et al. 2015). De

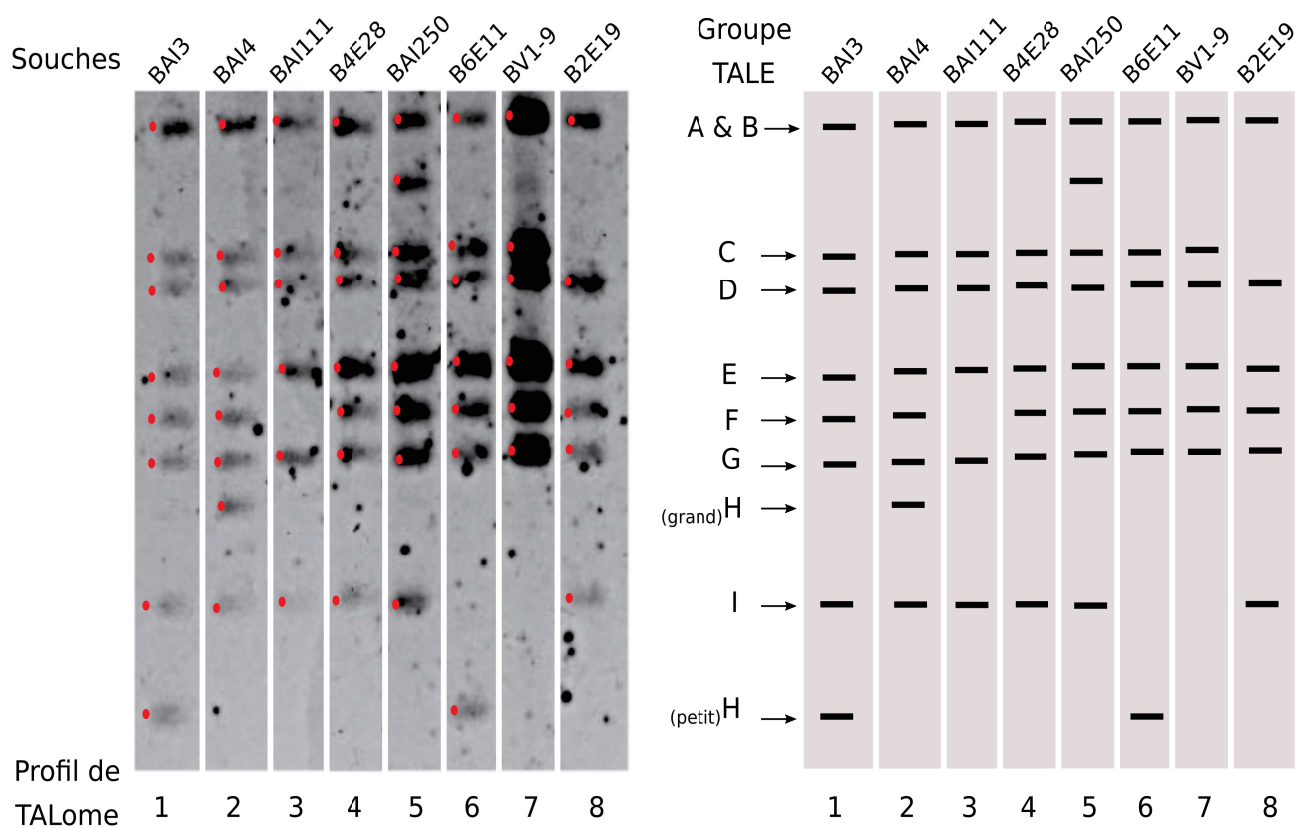


Figure 28. Les différents profils TAL-RFLP identifiés au sein de la collection CIX de l'IRD. D'après (Diallo et al. in prep)

L'ADN des souches a été digéré avec l'enzyme BamHI-HF coupant au niveau de séquences conservées en 3' et 5' de chaque TALE, de part et d'autre de la région centrale des répétitions. La sonde utilisée comporte la séquence codante de la région C-terminale du TalA de BAI3. Cette séquence étant très conservée chez les TALE ; la sonde s'hybride donc théoriquement avec tous les TALE.

plus, il a été rapporté que les espèces de *Xanthomonas* ayant de grands TALomes comme *Xoo* (allant de 8 à 20 TALE) présentent de fréquents réarrangements (Ponciano et al. 2004; Schandry et al. 2018). Il semblerait donc que le fait d'avoir plus de répétitions disponibles conduirait à un processus d'évolution plus rapide.

En 2000, Vera Cruz et ses collaborateurs ont observé aux Philippines le contournement de la résistance médiée par *Xa7* par les souches Asiatiques de *Xoo* de la race 9. Dans cette étude, diverses stratégies de contournement mises en place par les souches de *Xoo*, ont pu être identifiées allant du réarrangement intra-génique, créant du polymorphisme au niveau du locus *avrXa7*, à la présence de mutations à l'extrémité 3' de *avrXa7*. Cependant, la race 9b, bien qu'ayant son agressivité légèrement augmentée sur les variétés de riz portant *Xa7*, comporte toujours un allèle intact de *avrXa7*. Au cours de cette étude, des analyses de Southern blot ont révélé un fragment de 4,2 kb s'hybridant à la sonde *tal*, qui pourrait s'avérer être l'élément ayant permis aux souches de la race 9b de se maintenir au champ année après année (Vera Cruz et al. 2000).

On en revient à cette course aux armements qui confronte le pathogène et son hôte, créant un besoin d'évoluer toujours plus rapidement afin de s'adapter. Suivant cette hypothèse, les populations de pathogènes bénéficieraient alors d'un arsenal d'effecteurs variés afin de contrer les changements génétiques de son hôte. Concernant les TALE, nous pouvons donc supposer que les effecteurs pour lesquels aucun rôle de virulence n'a encore été identifié serviraient de réservoir de recombinaison/mutation pour générer de nouveaux variants virulents lorsque le pathogène rencontre un nouvel hôte résistant (Yang et al. 2005).

IV. Quels sont les mécanismes qui régissent l'évolution des TALomes ?

Comme supposé précédemment avec l'évolution des gènes *tal*, l'évolution des TALomes, de leur diversité de taille et de composition, pourrait être le résultat de programmes de sélection et de déploiement rapide de cultivars résistants aux xanthomonades. Par exemple, le riz est une culture céréalière qui a fait l'objet d'une sélection intensive dans les pays asiatiques et ce depuis une longue période. En revanche, la sélection du riz dans les pays africains nous ramène à une période beaucoup plus récente (Vaughan et al. 2008). Cette différence peut être reliée à la disparité de taille des TALomes entre les souches Asiatiques et Africaines de *Xoo* qui comportent respectivement jusqu'à 19 et jusqu'à 9 TALE (Gonzalez et al. 2007; Salzberg et al. 2008). Concernant la différence de composition de ces derniers, dans lesquelles on ne retrouve aucun TALE similaire, ceci pourrait s'expliquer par les cultivars distincts utilisés en Asie et en Afrique menant les souches Africaines et Asiatiques de *Xoo* à être confrontées à sources de résistance contrastées. Il peut alors être proposé que l'expansion des TALomes est une caractéristique qui a été sélectionnée en réponse à la

résistance des plantes, car elle permet aux bactéries de développer des stratégies de contre-défense et de s'adapter rapidement aux nouveaux cultivars (Schandry et al. 2018).

Si l'expansion des TALomes est le résultat d'une adaptation pour contrer les défenses de la plante hôte, comment expliquer que chez certaines souches Africaines de *Xoo*, des *tal* tendent à disparaître ? (Diallo et al., in prep). Une étude réalisée sur une collection de souches de *Xoo* provenant du Burkina Faso a permis de révéler six nouveaux profils de TALome, en comparaison aux deux profils des souches Africaines de référence MAI1 et BAI3 provenant du Mali et du Burkina Faso, respectivement (Figure 28 ; Diallo et al., in prep). Parmi ces six nouveaux profils, cinq ne possèdent pas de groupe correspondant à TalH. Un des profils ne contient plus de groupe s'apparentant ni à TalF, ni à TalH, et un autre est démuné des groupes TalD et TalH. De plus, deux des six profils ont aussi perdu le groupe s'apparentant à TalI (Figure 28 ; Diallo et al., in prep). Si on compare avec les résultats obtenus au cours de ma thèse, il semblerait que les TALE d'avirulence identifiés (même si uniquement candidats), c'est-à-dire TalF, TalI, TalH et TalD, tendent à disparaître des TALomes africains. A l'inverse de l'expansion des TALomes, nous pouvons imaginer qu'ici la bactérie utilise une autre stratégie pour lutter contre les mécanismes de défenses de la plante en se débarrassant des effecteurs d'avirulence. Des exemples similaires ont été rapportés dans les cas des champignons *M. oryzae* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Des études démontrent que la présence d'un élément transposable dans les gènes d'avirulence *AVR-Pita* et *AVR1*, respectivement, cause leur inactivation et provoque ainsi un gain de virulence des pathogènes (Kang et al. 2001; Inami et al. 2012). Cependant, une étude préliminaire réalisée au cours de ma thèse, consistant à tester sur IR64 une souche de chaque nouveau profil de TALome identifié, a montré qu'aucune perte d'avirulence n'est associée à la disparition de TalD ou TalH, précédemment rapportés pour induire de la résistance sur cette variété.

V. Que nous reste-t-il à découvrir encore sur les TALE ?

Les TALE sont des protéines à la structure complexe dotées de capacités surprenantes pour des effecteurs bactériens. La découverte de leur existence s'en est suivie de la compréhension de leur structure si particulière, leur permettant d'aller jusqu'au noyau des cellules eucaryotes mais aussi de se fixer au double brin de l'ADN et ainsi d'agir comme des facteurs de transcription eucaryote. En 2009, le code permettant de comprendre l'interaction TALE-ADN est déchiffré (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009), ce qui aida au développement de la technologie TALEN permettant l'édition du génome plus aisément (Bogdanove and Voytas 2011). Grâce à leur capacité à fixer le promoteur de leur gènes cibles, et le développement de logiciel de prédiction de cibles *in silico* (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), les TALE ont aussi permis la découverte de gènes S

et la mise en évidence de nouveaux gènes *R* tels que les gènes *E* (Yang et al. 2006; Antony et al. 2010; Strauß et al. 2012; Wang et al. 2015). Nous pensions avoir déjà tout vu, tout compris. Puis vint la découverte de variants TALE, nommés iTALE ou truncTALE, qui possèdent des délétions dans leur parties N- et C-terminales et dont la région centrale semble toujours fonctionnelle (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). Ces variants TALE permettent d'atténuer les réponses de défenses de la plante causées par le NB-LRR *Xa1* et ses allèles, chez le riz (Ji et al. 2016, 2020; Read et al. 2016). Ces dernières découvertes interrogent sur ce que nous réservent encore ces effecteurs. Si nous savons à l'heure actuelle que les TALE induisent l'expression des gènes qu'ils ciblent, nous n'avons aucune idée sur leur potentielle capacité à réprimer l'expression des gènes. Par ailleurs, leur domaine central étant composé de régions répétées en tandem, nous pouvons supposer que les TALE interagissent avec d'autres protéines, comme le font les NB-LRR, afin de réguler leur activité (positivement ou négativement) (Cesari et al. 2014), ou d'être régulés eux-mêmes. Il a été rapporté qu'en l'absence de pathogènes, des miRNA et siRNA secondaires agissent dans la régulation de l'expression des gènes NB-LRR pour réprimer ces récepteurs immunitaires, puis pour restaurer leurs niveaux basaux dans les phases tardives de l'infection (Zhai et al. 2011; Shivaprasad et al. 2012; Li et al. 2012). Nous pourrions donc émettre l'hypothèse que certains TALE sont réprimés par des mécanismes similaires, ou bien que l'interaction entre des petits ARN et des TALE induise des réponses de défenses de la plante.

VI. Quelles sont les stratégies pour maintenir la résistance des cultures ?

Le type de résistance le plus fréquemment exploité pour les cultures économiques est la résistance gène pour gène (Flor 1971; Gururani et al. 2012). Cette dernière consiste en l'interaction d'une seule protéine de résistance (*R*) de la plante avec une seule protéine d'avirulence (*Avr*) du pathogène. Cette interaction provoque généralement une cascade de réponses de défenses menant le plus souvent à la mort cellulaire locale de la plante, permettant de piéger le pathogène. On peut noter que ce type de résistance est présent autant dans la nature, en l'absence d'anthropisation, que dans le domaine agricole (Barrett et al. 2009; Gururani et al. 2012). Toutefois, la simplicité du modèle gène pour gène (une seule protéine *R* conférant la résistance à tous les pathogènes possédant la protéine *Avr* correspondante) est également ce qui le rend si vulnérable. Pour que l'agent pathogène puisse échapper à la reconnaissance de l'hôte plusieurs mécanismes d'évitement peuvent être mis en place, allant de la simple mutation ponctuelle du gène *Avr* reconnu (Dong et al. 2014) à la délétion du gène entier (Wichmann and Bergelson 2004). De plus, la forte pression de sélection exercée par des hôtes génétiquement uniformes dans les cultures actuelles ne fait qu'accélérer l'évolution des agents pathogènes pour surmonter ces résistances monogéniques, dont l'efficacité dépasse rarement une décennie (McDonald and Linde 2002a; Brown 2015). L'une des clés pour éviter la propagation des

agents pathogènes est d'accroître la complexité des schémas de résistance (McDonald and Linde 2002b). Pour cela, l'association de plusieurs loci, qui contribuent de manière additive ou redondante à la résistance, forcerait l'agent pathogène à évoluer de manière à surmonter plusieurs sources de résistance génétiques distinctes. Diverses stratégies suivant ce principe peuvent être mises en place dans les systèmes de cultures. En partant de la plus simple à la plus complexe, la première méthode consiste à répartir des gènes, dont l'action est redondante, dans divers hôtes de telle sorte que l'ensemble de la population exprime uniformément la résistance, mais avec des bases génétiques sous-jacentes différentes (Mundt 2002; M'Barek et al. 2019). Ce concept peut aussi être transposé à l'échelle d'un seul et même individu qui porterait plusieurs gènes *R*, et est nommé pyramidage de gènes (Zhang et al. 2006; Zhu et al. 2012). Dans le contexte de cette thèse, nous avons mis en évidence un cas de pyramidage naturel de plusieurs sources de résistance aux souches de *Xoo* Africaines dans la variété de riz CT13432, reposant sur l'induction d'un gène exécuteur par *Tall*, ainsi que sur un mécanisme de résistance de type *Xa1*. Par ailleurs, il s'avère que des gènes de résistance à *M. oryzae*, agent causal de la pyriculariose, aient déjà été identifiés dans cette variété, faisant de cette dernière un excellent réservoir de sources de résistance pour créer des variétés améliorées pour l'Afrique. Cependant, il arrive que certains gènes *R* ne soient pas compatibles les uns avec les autres, menant parfois à une forme d'auto-immunité favorisant la résistance au détriment de la biomasse (Chae et al. 2014; Barragan et al. 2019).

La résistance gène pour gène est souvent qualifiée de résistance qualitative, impliquant que les phénotypes observés sont soit de la résistance, soit de la maladie. Cependant il existe d'autres types de résistances que l'on nomme quantitatives car les phénotypes qui en ressortent ne sont pas binaires, mais plutôt graduels. Les résistances quantitatives sont le reflet de l'action de plusieurs gènes, dont la contribution ne permet pas une absence de maladie, mais une réduction de cette dernière (Poland et al. 2009; St.clair 2010; Roux et al. 2014). Comme nous avons pu le caractériser au cours de cette thèse (chapitre 2) la résistance induite par *BAI3* chez *IR64* est la conséquence de l'effet de plusieurs loci. Ce genre de résistance est plus difficilement surmontable par un pathogène, de par le nombre de gènes impliqués mais aussi de par les interactions possibles entre eux et avec l'environnement. Il est donc primordial de caractériser ce type de résistance, bien que complexe, afin de pouvoir exploiter au maximum ces ressources génétiques pour lutter contre les pathogènes.

Conclusions & Perspectives

Au cours de cette thèse, pour la première fois chez des souches Africaines de *Xoo*, deux TALE possédant une activité d'avirulence, et qui induiraient l'expression d'un gène *E* ont été identifiés. D'autre part, un mécanisme de résistance à large spectre actif contre les souches Africaines de *Xoo* a été caractérisé dans plusieurs accessions de riz. Les travaux menés pendant cette thèse ont aussi permis de mettre en lumière plusieurs QTL conférant de la résistance aux souches Africaines MAI1 et BAI3 dans la variété de riz élite IR64. Et pour finir une série de gènes candidats sous-jacents à la résistance de IR64 à MAI1 et BAI3 a été identifiée.

Les résultats obtenus démontrent l'utilité de combiner les approches de gain- et de perte-de-fonction qui se sont révélées être complémentaires et qui ont permis une grande avancée dans la caractérisation du rôle des TALE Africains dans la résistance. L'identification de différents profils de résistance chez IR64 grâce à l'approche de cartographie nous aide à mieux comprendre les divers mécanismes de résistance induits par MAI1 et BAI3. De plus, ces résultats mettent en avant l'importance d'utiliser plusieurs approches telles que la cartographie, l'analyse de transcriptome et la prédiction de cibles, pour identifier des gènes candidats. Chaque jeu de données produit et analysé étant imparfait et ayant ses limites, la combinaison de ces approches permet d'augmenter la probabilité d'identifier le bon candidat. Pour aller plus loin dans l'étude de la résistance induite par TalI chez CT13432, il serait intéressant d'utiliser une approche de type ChIP-seq ("chromatin immunoprecipitation sequencing"). Cette dernière permet d'étudier les interactions ADN/protéine à l'échelle du génome en combinant l'immunoprécipitation de la chromatine avec le séquençage de fragments d'ADN ciblés par des protéines, dans notre cas TalI. Le croisement de ces données avec des analyses de RNAseq et de prédictions d'EBE, si le génome séquencé de cette variété était disponible, favoriserait l'identification du gène *E* induit par TalI. Cette méthode de type ChIP-seq pourrait aussi être utile pour parfaire la liste de gènes candidats déjà établie dans le cas de la résistance induite chez IR64 par TalD, mais potentiellement aussi par d'autres TALE de BAI3 et MAI1. Par la suite, il serait capital de tester les gènes candidats des différents QTL identifiés, tout d'abord en regardant leur niveau d'expression par qPCR, puis en créant des TALE artificiels pour voir si leur induction promeut de la résistance. Enfin, la création de lignées éditées dans ces gènes, ou la transformation de lignées sensibles avec ces gènes de résistance candidats permettrait de confirmer leur rôle.

In fine, il sera primordial d'évaluer le spectre de résistance conféré par les gènes *E* induit par TalI et TalD dans leur variété respective, afin de déterminer si ces gènes peuvent être déployés aux champs

pour lutter contre une large gamme de souches ou uniquement contre MAI1 et BAI3. Dans le but de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à ces résistances, il sera important de poursuivre la caractérisation des TALomes Africains, et plus particulièrement des gènes d'avirulence, afin de déployer des sources de résistance plus durables. L'évaluation de la durabilité des résistances identifiées dans cette étude est fondamentale pour les projets futurs, car comme rapporté précédemment une course aux armements perpétuelle se déroule entre les pathogènes et leur hôtes. C'est pourquoi à l'avenir, identifier et déployer des résistances quantitatives, relevant de l'interaction de plusieurs gènes entre eux et/ou avec l'environnement, mais aussi des variétés cumulant plusieurs gènes de résistance agissant indépendamment contre le même pathogène, sera indispensable afin de lutter contre les mécanismes d'échappement de certaines bactéries. Finalement, étudier les mécanismes d'évolution des répertoires d'effecteurs bactériens, tels que les TALE, via des analyses de type MLVA permettrait de mieux appréhender les stratégies de contournement de la résistance et d'assurer une durabilité pérenne dans les cultures.

Annexes

Confirmation report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* in Senegal

Hamidou Tall^{1,4}, Marlène Lachaux¹, Amadou Diallo^{1,2}, Issa Wonni², Cheick Tékété³, Valérie Verdier¹, Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, IRD, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²Institut de l'Environnement et Recherches Agricoles, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

³USTT-B, FST, DER, LaboREM-Biotech, Bamako, Mali.

⁴Institut Sénégalais de Recherches Agricole (ISRA), Kolda, Sénégal

Xanthomonas oryzae pv. *X. oryzicola* (*Xoc*), the causal agent of Bacterial Leaf Streak (BLS), is considered as one of the most important emerging pathogens of rice in Africa. This disease is estimated as responsible of 20 to 30% yield loss (Sileshi et Gebeyehu 2021) and has been characterized in several west African countries including Mali and Burkina Faso since 2003 and more recently in Ivory Coast (Wonni et al. 2014, Diallo et al. 2021). Presence of BLS symptoms in Senegal were reported by Trinh in 1980 but, to our knowledge, BLS occurrence has never been validated further and no strain of *Xoc* have ever been isolated from Senegalese rice fields. *Xoc* is transmitted by seeds which contribute to its spread through the rice trade (Sileshi et Gebeyehu 2021). To confirm Trinh's observations, we surveyed rice fields between 2014 and 2016 in eight different regions where rice is produced in Senegal. Typical disease symptoms characterized by yellow-brown to black translucent leaf streaks sometimes along with exudates, were detected in fields of several regions and collected. Leaf pieces were successively sanitized, rinsed in sterile water, and symptomatic fragments were ground using the Qiagen Tissue Lyser System (QIAGEN, Courtaboeuf, France). The leaf powder was diluted in 1.5 ml of sterile water and incubated for 30 minutes at room temperature. Ten µl of the suspension was streaked on semi-selective PSA medium and incubated at 28°C for 3 to 7 days. Characteristic round, convex, mucous, straw-yellow *Xoc* candidate colonies were purified from six individual leaf samples from three distinct sites in the northern Senegal River Valley. To confirm their identity, isolated strains were tested for pathogenicity and molecular characterization. All isolates were subjected to the multiplex PCR developed for the identification of *X. oryzae* pathovars (Lang et al., 2010) and revealed the same PCR profile (two amplicons of 324 and 691 base pairs) similar to that of the *Xoc* reference strain

BLS256. Leaves of 5-week-old plants of *O. sativa* cv. Kitaake were infiltrated with a needleless syringe containing a bacterial suspension set at an optical density of 0.5. Upon seven days of incubation under greenhouse conditions ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ with a 12-hour photoperiod), all infiltrated spots (2 spots on 3 plants per isolate) developed water-soaked lesions similar to those caused by control strain BLS256, except when leaves were infiltrated with water. Symptomatic leaf tissues were ground and plated on PSA medium, resulting in colonies with typical *Xanthomonas* morphology that were diagnosed as *Xoc* by multiplex PCR typing, thus fulfilling Koch's postulate. At last, four of the isolates were subjected to *gyrB* sequencing upon PCR amplification using the universal primers XgyrB1F and XgyrB1R (Young et al., 2008). Analysis of 780bp partial *gyrB* sequences of strains S18-3-4, S23-1-12, S52-1-4 and S52-1-10 highlighted 100% identity with the *gyrB* sequence of strain BLS256 (Acc. No. CP003057). To our knowledge, this is the first report of BLS in Senegal which is supported by molecular characterization methods. This study validates the presence of BLS in Senegal and will serve as a basis for future efforts of rice breeding for locally adapted resistance. More studies are needed to clarify the spatial distribution and prevalence of BLS in Senegal as rice cultivation is expanding rapidly in the country.

Acknowledgments.

We acknowledge funding from West Africa Agricultural Productivity Programme (WAAPP).

References:

- Diallo, A et al, 2021. « First report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* in Ivory Coast ». *Plant disease*; 0191-2917
- Lang, J et al, 2010. « Genomics-based diagnostic marker development for *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *X. oryzae* pv. *X. oryzicola* ». *Plant disease* 94 (3) : 311-19.
- Sileshi, G W, and Gebeyehu S. 2021. « Emerging infectious diseases threatening food security and economies in Africa ». *Global Food Security* 28 : 100479.
- Trinh, T T, 1980. « New Rice Diseases and Insects in the Senegal River Basin in 1978/79. » *International Rice Commission Newsletter* 29 (2).
- Wonni, I et al, 2014. « Analysis of *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* population in Mali and Burkina Faso reveals a high level of genetic and pathogenic diversity ». *Phytopathology* 104 (5): 520-31.
- Young, J M et al, 2008. « A multilocus sequence analysis of the genus *Xanthomonas* ». *Systematic and applied microbiology* 31 (5): 366-77.

>gyrB_S18-3-4

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTATATGG
GCGAAGAATTACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCTGCGCGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S23-1-12

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTATATGG
GCGAAGAATTACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCTGCGCGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S52-1-4

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTATATGG
GCGAAGAATTACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCTGCGCGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S52-1-10

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTATATGG
GCGAAGAATTACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCTGCGCGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_BLS256

tgatgaccgacgcccagctgacggctgcacatccgtacctgttgctgaccttcttctaccggcagatgccggagctgatcgagcgggctacatctatcggcctgccc
ccgctgtacaagctcaagcaggcaagagcagctgtatctgaaggacgatgccgctcaacgcctacctggccagcaatgcggtgaaggtgaggcgctgattccggc
caccgacgagcccgatcaccggcgaagcgtggaaaaactgctgatgctgtaccagcgcacaacgaagcgattgcgcaacgcgaccgctacgaccggctttg
ctgaccgattgatgacctgcccggctggatgtggaacctgcatgccgaaggcaaccagatccggccctggatgctgagcagtgctcaatcgggcaccctg
ggcaccgcgctaccagttgcttcgacccggccactgagaacgcgctgcccagctggggcgatccgctcatatgggcaagaattcaccaggtgctgcccgat
ggggcgcttcaaaagcggcagctgctccgctgctgaggtatgctggccctgcatgatctggctgagggcgagggcgagctgctgagcggcaacaagacc
gatcaccagcttcgagcaggcgacgctggctgctgacgagggcaagaaggccgacgcttcagggcctggggcaaatgaacgccgagcagctgtg
gaaaccacgg

Références bibliographiques

i) Introduction

- Abouelhoda M, El-Kalioby M, Giegerich R (2010) WAMI: a web server for the analysis of minisatellite maps. *BMC Evol Biol* 2010 10:1–9. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-167>
- Adachi H, Derevnina L, Kamoun S (2019) NLR singletons, pairs, and networks: evolution, assembly, and regulation of the intracellular immunoreceptor circuitry of plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 50:121–131
- Ádám AL, Nagy ZÁ, Kátay G, et al (2018) Signals of Systemic Immunity in Plants: Progress and Open Questions. *Int J Mol Sci* 2018, Vol 19, Page 1146 19:1146. <https://doi.org/10.3390/IJMS19041146>
- Ade J, DeYoung BJ, Golstein C, Innes RW (2007) Indirect activation of a plant nucleotide binding site–leucine-rich repeat protein by a bacterial protease. *Proc Natl Acad Sci* 104:2531–2536. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0608779104>
- Afolabi O, Milan B, Poulin L, et al (2014) First Report of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* Causing Bacterial Leaf Streak of Rice in Uganda. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0745-PDN> 98:1579. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0745-PDN>
- Afolabi T, Fundação RA, Cruz O, et al (2016) First Report of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* Causing Bacterial Leaf Streak of Rice in Burundi Diversity of blast, Rice Yellow Mottle Virus, *Pantoea* spp. and *Sphingomonas* spp. in Africa and screening rice germplasm for disease resistance View project Pathogen-Host interaction for Rice blast disease in Uganda View project. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-14-0504-PDN>
- Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- Al-Saadi A, Reddy JD, Duan YP, et al (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. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-20-8-0934> 20:934–943. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-8-0934>
- Albar L, Lorieux M, Ahmadi N, et al (1998) Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus. I. QTLs identification and relationship between resistance and plant morphology. *Theor Appl Genet* 1998 977 97:1145–1154. <https://doi.org/10.1007/S001220051003>
- Albar L, Ndjiondjop M-N, Eshak · Z, et al (2003) Fine genetic mapping of a gene required for Rice yellow mottle virus cell-to-cell movement. *Theor Appl Genet* 107:371–378. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1258-4>
- Alfano JR, Collmer A (2004) TYPE III SECRETION SYSTEM EFFECTOR PROTEINS: Double Agents in Bacterial Disease and Plant Defense.

<http://dx.doi.org/101146/annurev.phyto42040103110731> 42:385–414. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.42.040103.110731>

- Ali ML, Sanchez PL, Yu S bin, et al (2010) Chromosome segment substitution lines: A powerful tool for the introgression of valuable genes from *Oryza* wild species into cultivated rice (*O. sativa*). *Rice* 3:218–234. <https://doi.org/10.1007/s12284-010-9058-3>
- Allaby RG, Fuller DQ, Brown TA (2008) The genetic expectations of a protracted model for the origins of domesticated crops. *Proc Natl Acad Sci* 105:13982–13986. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0803780105>
- Alvarez-Martinez CE, Christie PJ (2009) Biological Diversity of Prokaryotic Type IV Secretion Systems. *Microbiol Mol Biol Rev* 73:775–808. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00023-09>
- Andersen EJ, Nepal MP (2019) Diversification of Disease Resistance Receptors by Integrated Domain Fusions in Wheat and its Progenitors. *bioRxiv* 695148. <https://doi.org/10.1101/695148>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Arumuganathan K, Earle ED (1991) Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol Biol Report* 1991 93 9:208–218. <https://doi.org/10.1007/BF02672069>
- Ashikawa I, Hayashi N, Yamane H, et al (2008) Two Adjacent Nucleotide-Binding Site–Leucine-Rich Repeat Class Genes Are Required to Confer Pikm-Specific Rice Blast Resistance. *Genetics* 180:2267–2276. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.095034>
- Aslam SN, Newman MA, Erbs G, et al (2008) Bacterial Polysaccharides Suppress Induced Innate Immunity by Calcium Chelation. *Curr Biol* 18:1078–1083. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2008.06.061>
- Aung K, Jiang Y, He SY (2018) The role of water in plant–microbe interactions. *Plant J* 93:771–780. <https://doi.org/10.1111/tpj.13795>
- Awoderu VA, Bangura N, John VT (2008) Incidence, distribution and severity of bacterial diseases on rice in West Africa. <http://dx.doi.org/101080/09670879109371553> 37:113–117. <https://doi.org/10.1080/09670879109371553>
- Axtell MJ, Staskawicz BJ (2003) Initiation of RPS2-Specified Disease Resistance in *Arabidopsis* Is Coupled to the AvrRpt2-Directed Elimination of RIN4. *Cell* 112:369–377. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00036-9)
- Azzam O, Chancellor TCB (2002) The Biology, Epidemiology, and Management of Rice Tungro Disease in Asia. 86:88–100
- Baggs E, Dagdas G, Krasileva K V. (2017) NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR IDentity. *Curr Opin Plant Biol* 38:59–67. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2017.04.012>

- Ballvora A, Pierre M, Van den Ackerveken G, et al (2001) Genetic mapping and functional analysis of the tomato Bs4 locus governing recognition of the *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* AvrBs4 protein. *Mol Plant-Microbe Interact* 14:629–638. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.5.629>
- Balmer D, Planchamp C, Mauch-Mani B (2013) On the move: induced resistance in monocots. *J Exp Bot* 64:1249–1261. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERS248>
- Bandillo N, Raghavan C, Muyco PA, et al (2013) Multi-parent advanced generation inter-cross (MAGIC) populations in rice: Progress and potential for genetics research and breeding. *Rice* 6:1–15. <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-11>
- Baptista JC, Machado MA, Homem RA, et al (2010) Mutation in the xpsD gene of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* affects cellulose degradation and virulence. *Genet Mol Biol* 33:146–153. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572009005000110>
- Bari R, Jones JDG (2009) Role of plant hormones in plant defence responses. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9435-0>
- Barragan CA, Wu R, Kim ST, et al (2019) RPW8/HR repeats control NLR activation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet* 15:e1008313. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008313>
- Barrett LG, Thrall PH, Dodds PN, et al (2009) Diversity and Evolution of Effector Loci in Natural Populations of the Plant Pathogen *Melampsora lini*. *Mol Biol Evol* 26:2499–2513. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSP166>
- Basler M, Mekalanos JJ (2012) Type 6 Secretion Dynamics Within and Between Bacterial Cells. *Science* (80-) 337:815–815. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1222901>
- Bastedo DP, Khan M, Martel A, et al (2019) Perturbations of the ZED1 pseudokinase activate plant immunity. *PLOS Pathog* 15:e1007900. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1007900>
- Bauer Z, Gómez-Gómez L, Boller T, Felix G (2001) Sensitivity of Different Ecotypes and Mutants of *Arabidopsis thaliana* toward the Bacterial Elicitor Flagellin Correlates with the Presence of Receptor-binding Sites *. *J Biol Chem* 276:45669–45676. <https://doi.org/10.1074/JBC.M102390200>
- Bayer-Santos E, DeMoraes Ceseti L, Farah CS, et al (2019) Distribution, function and regulation of type 6 secretion systems of Xanthomonadales. *Front Microbiol* 10:1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01635>
- Bayer-Santos E, Lima L dos P, Ceseti L de M, et al (2018) *Xanthomonas citri* T6SS mediates resistance to *Dictyostelium* predation and is regulated by an ECF σ factor and cognate Ser/Thr kinase. *Environ Microbiol* 20:1562–1575. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14085>
- Bellafiore S, Briggs SP (2010) Nematode effectors and plant responses to infection. *Curr Opin Plant Biol* 13:442–448. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2010.05.006>
- Bernard GC, Egnin M, Bonsi C (2017) The Impact of Plant-Parasitic Nematodes on Agriculture and Methods of Control. *Nematol - Concepts, Diagnosis Control*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.68958>

- Bethke G, Pecher P, Eschen-Lippold L, et al (2012) Activation of the Arabidopsis thaliana Mitogen-Activated Protein Kinase MPK11 by the Flagellin-Derived Elicitor Peptide, flg22. <http://dx.doi.org/101094/MPMI-11-11-0281> 25:471–480. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-11-0281>
- Bhasin H, Bhatia D, Raghuvanshi S, et al (2011) New PCR-based sequence-tagged site marker for bacterial blight resistance gene Xa38 of rice. *Mol Breed* 2011 301 30:607–611. <https://doi.org/10.1007/S11032-011-9646-Y>
- Bi G, Zhou Z, Wang W, et al (2018) Receptor-Like Cytoplasmic Kinases Directly Link Diverse Pattern Recognition Receptors to the Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase Cascades in Arabidopsis. *Plant Cell* 30:1543–1561. <https://doi.org/10.1105/TPC.17.00981>
- Biezen EA Van Der, Jones JDG (1998) Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. *Trends Biochem Sci* 23:454–456. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(98\)01311-5](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(98)01311-5)
- Bigeard J, Colcombet J, Hirt H (2015) Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). *Mol Plant* 8:521–539. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.022>
- Bimolata W, Kumar A, Sundaram RM, et al (2013) Analysis of nucleotide diversity among alleles of the major bacterial blight resistance gene Xa27 in cultivars of rice (*Oryza sativa*) and its wild relatives. *Planta* 238:293–305. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1891-3>
- Boch J, Bonas U, Lahaye T (2014) TAL effectors - pathogen strategies and plant resistance engineering. *New Phytol* 204:823–832. <https://doi.org/10.1111/nph.13015>
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512. <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bogdanove AJ, Voytas DF (2011) TAL effectors: Customizable proteins for DNA targeting. *Science* (80-) 333:1843–1846. <https://doi.org/10.1126/science.1204094>
- Bonas U (1994) *hrp* Genes of Phytopathogenic Bacteria. *Curr Top Microbiol Immunol* 192:79–96. https://doi.org/10.1007/978-3-642-78624-2_4
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Boutrot F, Zipfel C (2017) Function, Discovery, and Exploitation of Plant Pattern Recognition Receptors for Broad-Spectrum Disease Resistance. *Annu Rev Phytopathol* 55:257–286. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120106>
- Brar, Khush (1997) Wide hybridization for rice improvements : alien gene transfer and molecular characterization of introgression. *Interspecific Hybrid Prog Prospect WARDA* 21–29
- Brown I, Trethowan J, Kerry M, et al (1998) Localization of components of the oxidative cross-linking of glycoproteins and of callose synthesis in papillae formed during the interaction between non-pathogenic strains of *Xanthomonas campestris* and French bean mesophyll cells. *Plant J*

- Brown JKM (2015) Durable Resistance of Crops to Disease: A Darwinian Perspective. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045914> 53:513–539. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-102313-045914>
- Buddenhagen IW (1979) Bacterial blight found in Africa. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19801367355>. Accessed 14 Aug 2021
- Busungu C, Taura S, Sakagami J-II, Ichitani K (2016) Identification and linkage analysis of a new rice bacterial blight resistance gene from XM14, a mutant line from IR24. *Breed Sci* 66:636–645. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.16062>
- Busungu C, Taura S, Sakagami JI, et al (2018) High-resolution mapping and characterization of xa42, a resistance gene against multiple xanthomonas oryzae pv. Oryzae races in rice (oryza sativa l.). *Breed Sci* 68:188–199. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.17094>
- Büttner D, Bonas U (2002) Getting across—bacterial type III effector proteins on their way to the plant cell. *EMBO J* 21:5313–5322. <https://doi.org/10.1093/EMBOJ/CDF536>
- Byrum SD, Taverna SD, Tackett AJ (2013) Purification of a specific native genomic locus for proteomic analysis. *Nucleic Acids Res* 41:e195–e195. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT822>
- Calil IP, Fontes EPB (2017) Plant immunity against viruses: antiviral immune receptors in focus. *Ann Bot* 119:711–723. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCW200>
- Cascales E, Christie PJ (2003) The versatile bacterial type IV secretion systems. *Nat Rev Microbiol* 2003 12 1:137–149. <https://doi.org/10.1038/nrmicro753>
- Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- Cesari S, Bernoux M, Moncuquet P, et al (2014) A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: The “integrated decoy” hypothesis. *Front Plant Sci* 5:606. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00606>
- Césari S, Kanzaki H, Fujiwara T, et al (2014) The NB-LRR proteins RGA 4 and RGA 5 interact functionally and physically to confer disease resistance. *EMBO J* 33:1941–1959. <https://doi.org/10.15252/embj.201487923>
- Césari S, Thilliez G, Ribot C, et al (2013) The Rice Resistance Protein Pair RGA4/RGA5 Recognizes the Magnaporthe oryzae Effectors AVR-Pia and AVR1-CO39 by Direct Binding. *Plant Cell* 25:1463–1481. <https://doi.org/10.1105/TPC.112.107201>
- Chae E, Bomblies K, Kim ST, et al (2014) Species-wide Genetic Incompatibility Analysis Identifies Immune Genes as Hot Spots of Deleterious Epistasis. *Cell* 159:1341–1351. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.10.049>
- Chai HB, Doke N (1987) Activation of the potential of potato leaf tissue to react hypersensitively to *Phytophthora infestans* by cytosporic germination fluid and the enhancement of this potential by calcium ions. *Physiol Mol Plant Pathol* 30:27–37. [https://doi.org/10.1016/0885-5765\(87\)90080-4](https://doi.org/10.1016/0885-5765(87)90080-4)

- Cheema KK, Grewal NK, Vikal Y, et al (2008) A novel bacterial blight resistance gene from *Oryza nivara* mapped to 38 kb region on chromosome 4L and transferred to *Oryza sativa* L. *Genet Res (Camb)* 90:397–407. <https://doi.org/10.1017/S0016672308009786>
- Chen H, Xue L, Chintamanani S, et al (2009a) ETHYLENE INSENSITIVE3 and ETHYLENE INSENSITIVE3-LIKE1 Repress SALICYLIC ACID INDUCTION DEFICIENT2 Expression to Negatively Regulate Plant Innate Immunity in Arabidopsis. *Plant Cell* 21:2527–2540. <https://doi.org/10.1105/TPC.108.065193>
- Chen L-Q (2014) SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. *New Phytol* 201:1150–1155. <https://doi.org/10.1111/NPH.12445>
- Chen L-Q, Cheung LS, Feng L, et al (2015) Transport of Sugars. <http://dx.doi.org/101146/annurev-biochem-060614-033904> 84:865–894. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-BIOCHEM-060614-033904>
- Chen L-Q, Hou B-H, Lalonde S, et al (2010) Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nat* 2010 4687323 468:527–532. <https://doi.org/10.1038/nature09606>
- Chen S, Huang Z, Zeng L, et al (2008) High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae* resistance gene Xa7. *Mol Breed* 2008 223 22:433–441. <https://doi.org/10.1007/S11032-008-9187-1>
- Chen S, Liu X, Zeng L, et al (2011) Genetic analysis and molecular mapping of a novel recessive gene xa34(t) for resistance against *xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Theor Appl Genet* 122:1331–1338. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1534-7>
- Chen S, Wang C, Yang J, et al (2020) Identification of the novel bacterial blight resistance gene Xa46(t) by mapping and expression analysis of the rice mutant H120. *Sci Rep* 10:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69639-y>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chen X, Steed A, Travella S, et al (2009b) *Fusarium graminearum* exploits ethylene signalling to colonize dicotyledonous and monocotyledonous plants. *New Phytol* 182:975–983. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2009.02821.X>
- Chen X, Zuo S, Schwessinger B, et al (2014) An XA21-associated kinase (OsSERK2) regulates immunity mediated by the XA21 and XA3 immune receptors. *Mol Plant* 7:874–892. <https://doi.org/10.1093/MP/SSU003>
- Cheng H, Liu H, Deng Y, et al (2015) The WRKY45-2 WRKY13 WRKY42 transcriptional regulatory cascade is required for rice resistance to fungal pathogen. *Plant Physiol* 167:1087–1099. <https://doi.org/10.1104/PP.114.256016>
- Cheong H, Kim C-Y, Jeon J-S, et al (2013) *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Type III Effector XopN Targets OsVOZ2 and a Putative Thiamine Synthase as a Virulence Factor in Rice. *PLoS One* 8:e73346. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0073346>

- Chinchilla D, Zipfel C, Robatzek S, et al (2007) A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nat* 2007 448:497–500.
<https://doi.org/10.1038/nature05999>
- Chong J, Piron M-C, Meyer S, et al (2014) The SWEET family of sugar transporters in grapevine: VvSWEET4 is involved in the interaction with *Botrytis cinerea*. *J Exp Bot* 65:6589–6601.
<https://doi.org/10.1093/JXB/ERU375>
- Chou FL, Chou HC, Lin YS, et al (1997) The *Xanthomonas campestris* gumD Gene Required for Synthesis of Xanthan Gum Is Involved in Normal Pigmentation and Virulence in Causing Black Rot. *Biochem Biophys Res Commun* 233:265–269.
<https://doi.org/10.1006/BBRC.1997.6365>
- Christian M, Cermak T, Doyle EL, et al (2010) Targeting DNA Double-Strand Breaks with TAL Effector Nucleases. *Genetics* 186:757–761. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.110.120717>
- Chukwu SC, Rafii · M Y, Ramlee · S I, et al (2019) Bacterial leaf blight resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approach. *Mol Biol Rep* 46:1519–1532.
<https://doi.org/10.1007/s11033-019-04584-2>
- Chung EH, Da Cunha L, Wu AJ, et al (2011) Specific Threonine Phosphorylation of a Host Target by Two Unrelated Type III Effectors Activates a Host Innate Immune Receptor in Plants. *Cell Host Microbe* 9:125–136. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2011.01.009>
- Cianciotto NP, White RC (2017) Expanding role of type II secretion in bacterial pathogenesis and beyond. *Infect Immun* 85:. <https://doi.org/10.1128/IAI.00014-17>
- Cianfanelli FR, Monlezun L, Coulthurst SJ (2016) Aim, Load, Fire: The Type VI Secretion System, a Bacterial Nanoweapon. *Trends Microbiol* 24:51–62.
<https://doi.org/10.1016/J.TIM.2015.10.005>
- Civán P, Craig H, Cox CJ, Brown TA (2015) Three geographically separate domestications of Asian rice. *Nat Plants* 1:15164. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.164>
- Cohn M, Bart RS, Shybut M, et al (2014) *Xanthomonas axonopodis* Virulence Is Promoted by a Transcription Activator-Like Effector–Mediated Induction of a SWEET Sugar Transporter in Cassava. <http://dx.doi.org/101094/MPMI-06-14-0161-R> 27:1186–1198.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-06-14-0161-R>
- Cox KL, Meng F, Wilkins KE, et al (2017) TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. *Nat Commun* 8:15588.
<https://doi.org/10.1038/ncomms15588>
- Cruz RP da, Sperotto RA, Cargnelutti D, et al (2013) Avoiding damage and achieving cold tolerance in rice plants. *Food Energy Secur* 2:96–119. <https://doi.org/10.1002/FES3.25>
- Cunningham F, Amode MR, Barrell D, et al (2015) Ensembl 2015. *Nucleic Acids Res* 43:D662–D669. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1010>

- da Silva ACR, Ferro JA, Reinach FC, et al (2002) Comparison of the genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities. *Nat* 2002 4176887 417:459–463.
<https://doi.org/10.1038/417459a>
- Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ (2013) Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* (80-) 341:746–751. <https://doi.org/10.1126/science.1236011>
- Dangl JL, Jones JDG (2001) Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411:826–833. <https://doi.org/10.1038/35081161>
- Dar AA, Mahajan R, Sharma S (2019) Molecular markers for characterization and conservation of plant genetic resources Characterisation of common bean germplasm View project. *Artic Indian J Agric Sci*
- Darsonval A, Darrasse A, Durand K, et al (2009) Adhesion and Fitness in the Bean Phyllosphere and Transmission to Seed of *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans*.
<http://dx.doi.org/101094/MPMI-22-6-0747> 22:747–757. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-6-0747>
- Das A, Rangaraj N, Sonti R V. (2008) Multiple Adhesin-Like Functions of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Are Involved in Promoting Leaf Attachment, Entry, and Virulence on Rice.
<http://dx.doi.org/101094/MPMI-22-1-0073> 22:73–85. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-1-0073>
- De La Concepcion JC, Franceschetti M, Maclean D, et al (2019) Protein engineering expands the effector recognition profile of a rice NLR immune receptor. *Elife* 8:.
<https://doi.org/10.7554/ELIFE.47713>
- De Lange O, Binder A, Lahaye T (2014) From dead leaf, to new life: TAL effectors as tools for synthetic biology. *Plant J* 78:753–771. <https://doi.org/10.1111/tpj.12431>
- De Vleeschauwer D, Xu J, Höfte M (2014) Making sense of hormone-mediated defense networking: from rice to *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 0:611.
<https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00611>
- Deng D, Yan C, Pan X, et al (2012a) Structural Basis for Sequence-Specific Recognition of DNA by TAL Effectors. *Science* (80-) 335:720–723. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1215670>
- Deng H, Liu H, Li X, et al (2012b) A CCCH-type zinc finger nucleic acid-binding protein quantitatively confers resistance against rice bacterial blight disease. *Plant Physiol* 158:876–889. <https://doi.org/10.1104/PP.111.191379>
- Deng W, Marshall NC, Rowland JL, et al (2017) Assembly, structure, function and regulation of type III secretion systems. *Nat Rev Microbiol* 15:323–337.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.20>
- Denoux C, Galletti R, Mammarella N, et al (2008) Activation of defense response pathways by OGs and Flg22 elicitors in *Arabidopsis* seedlings. *Mol Plant* 1:423–445. <https://doi.org/10.1093/mp/ssn019>

- Dharmapuri S, Sonti R V. (1999) A transposon insertion in the gumG homologue of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causes loss of extracellular polysaccharide production and virulence. *FEMS Microbiol Lett* 179:53–59. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6968.1999.TB08707.X>
- Diallo MA, Zougrana MS, Sawadogo PM, et al (2021) First report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* in Ivory Coast. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0811-PDN>. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0811-PDN>
- Djedatin G, Ndjioudjop M-NN, Sanni A, et al (2016) Identification of novel major and minor QTLs associated with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (African strains) resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice* 9:1–10. <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0090-9>
- Dodds PN, Rathjen JP (2010) Plant immunity: Towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nat Rev Genet* 11:539–548. <https://doi.org/10.1038/nrg2812>
- Dong S, Stam R, Cano LM, et al (2014) Effector Specialization in a Lineage of the Irish Potato Famine Pathogen. *Science* (80-) 343:552–555. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1246300>
- Doucouré H, Pérez-Quintero AL, Reshetnyak G, et al (2018) Functional and genome sequence-driven characterization of tal effector gene repertoires reveals novel variants with altered specificities in closely related malian *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains. *Front Microbiol* 9:1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01657>
- Dow JM, Crossman L, Findlay K, et al (2003) Biofilm dispersal in *Xanthomonas campestris* is controlled by cell–cell signaling and is required for full virulence to plants. *Proc Natl Acad Sci* 100:10995–11000. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1833360100>
- Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT) 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122. <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>
- Drobnak I, Braselmann E, Chaney JL, et al (2015) Of linkers and autochaperones: an unambiguous nomenclature to identify common and uncommon themes for autotransporter secretion. *Mol Microbiol* 95:1–16. <https://doi.org/10.1111/MMI.12838>
- Droc G, Ruiz M, Larmande P, et al (2006) OryGenesDB: a database for rice reverse genetics. *Nucleic Acids Res* 34:D736–D740. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj012>
- Duan S, Jia H, Pang Z, et al (2018) Functional characterization of the citrus canker susceptibility gene CsLOB1. *Mol Plant Pathol* 19:1908–1916. <https://doi.org/10.1111/MPP.12667>
- Dunger G, Relling VM, Tondo ML, et al (2007) Xanthan is not essential for pathogenicity in citrus canker but contributes to *Xanthomonas epiphytic* survival. *Arch Microbiol* 2007 1882 188:127–135. <https://doi.org/10.1007/S00203-007-0227-8>
- Duxbury Z, Wu CH, Ding P (2021) A Comparative Overview of the Intracellular Guardians of Plants and Animals: NLRs in Innate Immunity and Beyond. *Annu Rev Plant Biol* 72:155–184. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-080620-104948>

- Edwards MD, Stuber CW, Wendel JF (1987) Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize. I. Numbers, genomic distribution and types of gene action. *Genetics* 116:113–125. <https://doi.org/10.1093/genetics/116.1.113>
- El Kasmi F, Horvath D, Lahaye T (2018) Microbial effectors and the role of water and sugar in the infection battle ground. *Curr Opin Plant Biol* 44:98–107. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2018.02.011>
- Ellis J, Jones D (1998) Structure and function of proteins controlling strain-specific pathogen resistance in plants. *Curr Opin Plant Biol* 1:288–293. [https://doi.org/10.1016/1369-5266\(88\)80048-7](https://doi.org/10.1016/1369-5266(88)80048-7)
- Eom J-S, Chen L-Q, Sosso D, et al (2015) SWEETs, transporters for intracellular and intercellular sugar translocation. *Curr Opin Plant Biol* 25:53–62. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.04.005>
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2019) PrediTALe: A novel model learned from quantitative data allows for new perspectives on TALE targeting. *Public Library of Science*
- Erkes A, Reschke M, Boch J, Grau J (2017) Evolution of transcription activator-like effectors in *Xanthomonas oryzae*. *Genome Biol Evol* 9:1599–1699. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx108>
- Escalon A, Javegny S, Vernière C, 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. <https://doi.org/10.1111/MPP.12019>
- Eshed Y, Zamir D (1995) An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL. *Genetics* 141:1147–1162. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/141.3.1147>
- Fang C -t., Ken H -c., Chen T -y., et al (1957) A comparison of the Rice bacterial leaf blight organism with the bacterial leaf streak organisms of Rice and *Leersia hexandra* Swartz. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19581101830>. Accessed 14 Aug 2021
- Feng CY, Han JX, Han XX, Jiang J (2015) Genome-wide identification, phylogeny, and expression analysis of the SWEET gene family in tomato. *Gene* 573:261–272. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2015.07.055>
- Feng F, Yang F, Rong W, et al (2012) A *Xanthomonas* uridine 5'-monophosphate transferase inhibits plant immune kinases. *Nat* 2012 4857396 485:114–118. <https://doi.org/10.1038/nature10962>
- Ferreira RM, de Oliveira ACP, Moreira LM, et al (2015) A TALE of Transposition: Tn3-like transposons play a major role in the spread of pathogenicity determinants of *xanthomonas citri* and other *xanthomonads*. *MBio* 6:. <https://doi.org/10.1128/MBIO.02505-14>
- Fine EJ, Cradick TJ, Zhao CL, et al (2014) An online bioinformatics tool predicts zinc finger and TALE nuclease off-target cleavage. *Nucleic Acids Res* 42:e42–e42. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1326>
- Flor HH (1971) Current status of the gene-fob-gene concept. 275–296

- Foley JA, Ramankutty N, Brauman KA, et al (2011) Solutions for a cultivated planet. *Nat* 2011 478:337–342. <https://doi.org/10.1038/nature10452>
- Fu J, Liu H, Li Y, et al (2011) Manipulating Broad-Spectrum Disease Resistance by Suppressing Pathogen-Induced Auxin Accumulation in Rice. *Plant Physiol* 155:589–602. <https://doi.org/10.1104/PP.110.163774>
- Fu ZQ, Dong X (2013) Systemic Acquired Resistance: Turning Local Infection into Global Defense. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105606> 64:839–863. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ARPLANT-042811-105606>
- Fujita T, Asano Y, Ohtsuka J, et al (2013) Identification of telomere-associated molecules by engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation (enChIP). *Sci Reports* 2013 31 3:1–7. <https://doi.org/10.1038/srep03171>
- Fuller DQ (2007) Contrasting Patterns in Crop Domestication and Domestication Rates: Recent Archaeobotanical Insights from the Old World. *Ann Bot* 100:903–924. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCM048>
- Gaffney T, Friedrich L, Vernooij B, et al (1993) Requirement of Salicylic Acid for the Induction of Systemic Acquired Resistance. *Science* (80-) 261:754–756. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.261.5122.754>
- Gaige AR, Ayella A, Shuai B (2010) Methyl jasmonate and ethylene induce partial resistance in *Medicago truncatula* against the charcoal rot pathogen *Macrophomina phaseolina*. *Physiol Mol Plant Pathol* 74:412–418. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2010.07.001>
- Gao Q, Kachroo A, Kachroo P (2014) Chemical inducers of systemic immunity in plants. *J Exp Bot* 65:1849–1855. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU010>
- Garavito A, Guyot R, Lozano J, et al (2010) A Genetic Model for the Female Sterility Barrier Between Asian and African Cultivated Rice Species. *Genetics* 185:1425–1440. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.110.116772>
- Garg AK, Kim J-K, Owens TG, et al (2002) Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proc Natl Acad Sci* 99:15898–15903. <https://doi.org/10.1073/PNAS.252637799>
- Garita-Cambronero J, Palacio-Bielsa A, López MM, Cubero J (2017) Pan-Genomic Analysis Permits Differentiation of Virulent and Non-virulent Strains of *Xanthomonas arboricola* That Cohabit *Prunus* spp. and Elucidate Bacterial Virulence Factors. *Front Microbiol* 0:573. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.00573>
- Garris AJ, Tai TH, Coburn J, et al (2005) Genetic Structure and Diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* 169:1631–1638. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.035642>
- Gerlach RG, Hensel M (2007) Protein secretion systems and adhesins: The molecular armory of Gram-negative pathogens. *Int J Med Microbiol* 297:401–415. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.03.017>

- Glazebrook J (2005) Contrasting Mechanisms of Defense Against Biotrophic and Necrotrophic Pathogens. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto43040204135923> 43:205–227. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.43.040204.135923>
- Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, et al (2010) Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science* (80-) 327:812–818. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1185383>
- Goff SA, Ricke D, Lan T-H, et al (2002) A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science* (80-) 296:92–100. <https://doi.org/10.1126/science.1068275>
- Gómez-Gómez L, 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. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(00\)80265-8](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)80265-8)
- Gómez-Gómez L, Felix G, Boller T (1999) A single locus determines sensitivity to bacterial flagellin in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 18:277–284. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.00451.x>
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gonzalez CF (1991) *Leersia hexandra*, an Alternative Host for *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in Texas . *Plant Dis* 75:159. <https://doi.org/10.1094/PD-75-0159>
- González VM, Müller S, Baulcombe D, Puigdomènech P (2015) Evolution of NBS-LRR Gene Copies among Dicot Plants and its Regulation by Members of the miR482/2118 Superfamily of miRNAs. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.013>
- Goodner B, Hinkle G, Gattung S, et al (2001) Genome Sequence of the Plant Pathogen and Biotechnology Agent *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* (80-) 294:2323–2328. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1066803>
- Gordon JL, Lefeuvre P, Escalon A, et al (2015) Comparative genomics of 43 strains of *Xanthomonas citri* pv. *citri* reveals the evolutionary events giving rise to pathotypes with different host ranges. *BMC Genomics* 2015 16:1–20. <https://doi.org/10.1186/S12864-015-2310-X>
- Goto F, Yoshihara T, Shigemoto N, et al (1999) Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene. *Nat Biotechnol* 17:282–286. <https://doi.org/10.1038/7029>
- Goto M (1992) *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. 365
- Goto T, MATSUMOTO T, FURUYA N, et al (2009) Mapping of Bacterial Blight Resistance Gene Xa11 on Rice Chromosome 3. *Japan Agric Res Q JARQ* 43:221–225. <https://doi.org/10.6090/JARQ.43.221>
- Gottig N, Garavaglia BS, Garofalo CG, et al (2009) A Filamentous Hemagglutinin-Like Protein of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, the Phytopathogen Responsible for Citrus Canker, Is Involved in Bacterial Virulence. *PLoS One* 4:e4358. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0004358>

- Grant M, Brown I, Adams S, et al (2000) The RPM1 plant disease resistance gene facilitates a rapid and sustained increase in cytosolic calcium that is necessary for the oxidative burst and hypersensitive cell death. *Plant J* 23:441–450. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2000.00804.x>
- Grant M, Lamb C (2006) Systemic immunity. *Curr Opin Plant Biol* 9:414–420. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2006.05.013>
- Grau J, Boch J, Posch S (2013a) TALENoffer: genome-wide TALEN off-target prediction. *Bioinformatics* 29:2931–2932. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTT501>
- Grau J, Keilwagen J, Posch S, Grosse I (2012) Jstacs: A Java Framework for Statistical Analysis and Classification of Biological Sequences André Gohr Berit Haldemann. *J Mach Learn Res* 13:1967–1971
- Grau J, Wolf A, Reschke M, et al (2013b) Computational Predictions Provide Insights into the Biology of TAL Effector Target Sites. *PLOS Comput Biol* 9:e1002962. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1002962>
- Greenberg JT, Yao N (2004) The role of regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cell Microbiol* 6:201–211. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2004.00361.x>
- Grellet-Bournonville CF, Martinez-Zamora MG, Castagnaro AP, Díaz-Ricci JC (2012) Temporal accumulation of salicylic acid activates the defense response against *Colletotrichum* in strawberry. *Plant Physiol Biochem* 54:10–16. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2012.01.019>
- Griebel T, Maekawa T, Parker JE (2014) NOD-like receptor cooperativity in effector-triggered immunity. *Trends Immunol* 35:562–570. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2014.09.005>
- Gross BL, Zhao Z (2014) Archaeological and genetic insights into the origins of domesticated rice. *Proc Natl Acad Sci* 111:6190–6197. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1308942110>
- Gu K, Sangha JS, Li Y, Yin Z (2008) High-resolution genetic mapping of bacterial blight resistance gene Xa10. *Theor Appl Genet* 116:155–163. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0655-5>
- Gu K, Tian D, Qiu C, Yin Z (2009) Transcription activator-like type III effector avrxa27 depends on ostfiiay5 for the activation of Xa27 transcription in rice that triggers disease resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*: Short communication. *Mol Plant Pathol* 10:829–835. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00567.x>
- Gu K, Tian D, Yang F, et al (2004) High-resolution genetic mapping of Xa27(t), a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 108:800–807. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1491-x>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Guo S, Zhang D, Lin X (2010) Identification and Mapping of a Novel Bacterial Blight Resistance. *Sci Agric Sin* 43:2611–2618

- Gururani MA, Venkatesh J, Upadhyaya CP, et al (2012) Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiol Mol Plant Pathol* 78:51–65. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2012.01.002>
- Gutterson N, Reuber TL (2004) Regulation of disease resistance pathways by AP2/ERF transcription factors. *Curr Opin Plant Biol* 7:465–471. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.04.007>
- H. Gridley MJ and MW-P (2002) Development of new rice for Africa (NERICA) and participatory varietal selection. In: *Breeding rainfed rice for drought -prone environment: interacting conventional and participatory plant breeding in South and Southeast Asia. Proceedings of a DFID plant sciences research programme/IRRI conference.* pp 23–28
- Hachani A, Wood TE, Filloux A (2016) Type VI secretion and anti-host effectors. *Curr Opin Microbiol* 29:81–93. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2015.11.006>
- Halim VA, Eschen-Lippold L, Altmann S, et al (2007) Salicylic acid is important for basal defense of *Solanum tuberosum* Against *Phytophthora infestans*. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:1346–1352. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-11-1346>
- Hamann T (2012) Plant cell wall integrity maintenance as an essential component of biotic stress response mechanisms. *Front Plant Sci* 0:77. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2012.00077>
- Han J, Xia Z, Liu P, et al (2020) TALEN-based editing of TFIIA5 changes rice response to *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *Sci Reports* 2020 10:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59052-w>
- Hann DR, Rathjen JP (2007) Early events in the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* on *Nicotiana benthamiana*. *Plant J* 49:607–618. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02981.x>
- Hayafune M, Berisio R, Marchetti R, et al (2014) Chitin-induced activation of immune signaling by the rice receptor CEBiP relies on a unique sandwich-type dimerization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E404–E413. <https://doi.org/10.1073/pnas.1312099111>
- He Q, Li D, Zhu Y, et al (2006) Fine Mapping of Xa2, a Bacterial Blight Resistance Gene in Rice. *Mol Breed* 2006 17:1–6. <https://doi.org/10.1007/S11032-005-8698-2>
- Hébrard E, Froissart R, Louis C, Blanc S (1999) Les modes de transmission des virus phytopathogènes par vecteurs. *Virologie* 3:35–48
- Heigwer F, Kerr G, Walther N, et al (2013) E-TALEN: a web tool to design TALENs for genome engineering. *Nucleic Acids Res* 41:e190–e190. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT789>
- Helliwell EE, Wang Q, Yang Y (2013) Transgenic rice with inducible ethylene production exhibits broad-spectrum disease resistance to the fungal pathogens *Magnaporthe oryzae* and *Rhizoctonia solani*. *Plant Biotechnol J* 11:33–42. <https://doi.org/10.1111/PBI.12004>
- Hirabayashi H, Sasaki K, Kambe T, et al (2015) qEMF3, a novel QTL for the early-morning flowering trait from wild rice, *Oryza officinalis*, to mitigate heat stress damage at flowering in rice, *O. sativa*. *J Exp Bot* 66:1227–1236. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU474>

- Hoffman T, Schmidt JS, Zheng X, Bent AF (1999) Isolation of Ethylene-Insensitive Soybean Mutants That Are Altered in Pathogen Susceptibility and Gene-for-Gene Disease Resistance. *Plant Physiol* 119:935–950. <https://doi.org/10.1104/PP.119.3.935>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Howe GA, Jander G (2008) Plant Immunity to Insect Herbivores. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant59032607092825> 59:41–66. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.ARPLANT.59.032607.092825>
- Hsu PD, Scott DA, Weinstein JA, et al (2013) DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. *Nat Biotechnol* 2013 319 31:827–832. <https://doi.org/10.1038/nbt.2647>
- Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>
- Hu M, Qi J, Bi G, Zhou JM (2020) Bacterial Effectors Induce Oligomerization of Immune Receptor ZAR1 In Vivo. *Mol Plant* 13:793–801. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2020.03.004>
- Hu Y, Duan S, Zhang Y, et al (2016) Temporal Transcription Profiling of Sweet Orange in Response to PthA4-Mediated *Xanthomonas citri* subsp. *citri* Infection. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0201-R> 106:442–451. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0201-R>
- Hu Y, Zhang J, Jia H, et al (2014) Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E521–E529. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313271111>
- Huang L, Brooks S, Li W, et al (2009) Evolution of New Disease Specificity at a Simple Resistance Locus in a Crop–Weed Complex: Reconstitution of the Lr21 Gene in Wheat. *Genetics* 182:595–602. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.099614>
- Huang N, Angeles ER, Domingo J, et al (1997) Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker-assisted selection using RFLP and PCR. *Theor Appl Genet* 1997 953 95:313–320. <https://doi.org/10.1007/S001220050565>
- Huang R, Hui S, Zhang M, et al (2017) A Conserved Basal Transcription Factor Is Required for the Function of Diverse TAL Effectors in Multiple Plant Hosts. *Front Plant Sci* 0:1919. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2017.01919>
- Huang X, Kurata N, Wei X, et al (2012) A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature* 490:497–501. <https://doi.org/10.1038/nature11532>
- Huerta AI, Delorean EE, Bossa-Castro AM, et al (2021) Resistance and susceptibility QTL identified in a rice MAGIC population by screening with a minor-effect virulence factor from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Biotechnol J* 19:51–63. <https://doi.org/10.1111/pbi.13438>

- Huffaker A, Pearce G, Ryan CA (2006) An endogenous peptide signal in *Arabidopsis* activates components of the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10098–10103. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603727103>
- Hui S, Liu H, Zhang M, 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. <https://doi.org/10.1016/J.PLANTSCI.2019.04.004>
- Hui S, Shi Y, Tian J, et al (2019b) TALE carrying bacterial pathogens trap host nuclear import receptors for facilitation of infection of rice. *Mol Plant Pathol* 20:519–532. <https://doi.org/10.1111/mpp.12772>
- Hung CH, Wu HC, Tseng YH (2002) Mutation in the *Xanthomonas campestris* xanA Gene Required for Synthesis of Xanthan and Lipopolysaccharide Drastically Reduces the Efficiency of Bacteriophage ϕ L7 Adsorption. *Biochem Biophys Res Commun* 291:338–343. <https://doi.org/10.1006/BBRC.2002.6440>
- Hutin M, Pérez-Quintero AL, Lopez C, Szurek B (2015a) MorTAL KomBAT: the story of defense against TAL effectors through loss-of-susceptibility. *Front Plant Sci* 6:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00535>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015b) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Ichimura K, Shinozaki K, Tena G, et al (2002) Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci* 7:301–308. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02302-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02302-6)
- Iriti M, Faoro F (2009) Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. *Plant Signal Behav* 4:66–68. <https://doi.org/10.4161/psb.4.1.7408>
- Iriti M, Varoni EM (2014) Chitosan-induced antiviral activity and innate immunity in plants. *Environ Sci Pollut Res* 2014 224 22:2935–2944. <https://doi.org/10.1007/S11356-014-3571-7>
- Ishikawa K, Yamaguchi K, Sakamoto K, et al (2014) Bacterial effector modulation of host E3 ligase activity suppresses PAMP-triggered immunity in rice. *Nat Commun* 2014 51 5:1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms6430>
- Ishiyama, S. 1922. Studies of bacterial leaf blight of rice. *Rep. Imp. Agric. Stn. Konosu* 45233-261
- Iyer AS, McCouch SR (2007) The Rice Bacterial Blight Resistance Gene xa5 Encodes a Novel Form of Disease Resistance. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI200417121348> 17:1348–1354. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.12.1348>
- Jackson MT (1995) Protecting the heritage of rice biodiversity. *GeoJournal* 35:267–274. <https://doi.org/10.1007/BF00989134>
- Jacob F, Vernaldi S, Maekawa T (2013) Evolution and Conservation of Plant NLR Functions. *Front Immunol* 0:297. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2013.00297>

- Jacobs JM, Pesce C, Lefeuvre P, Koebnik R (2015) Comparative genomics of a cannabis pathogen reveals insight into the evolution of pathogenicity in *Xanthomonas*. *Front Plant Sci* 0:431. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00431>
- Jacquemin J, Bhatia D, Singh K, Wing RA (2013) The International Oryza Map Alignment Project: development of a genus-wide comparative genomics platform to help solve the 9 billion-people question. *Curr Opin Plant Biol* 16:147–156. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.014>
- Jacques M-A, Arlat M, Boulanger A, et al (2016) Using Ecology, Physiology, and Genomics to Understand Host Specificity in *Xanthomonas*. *Annu Rev Phytopathol* 54:163–187. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100147>
- Jaiswal P, Ni J, Yap I, et al (2006) Gramene: a bird's eye view of cereal genomes. *Nucleic Acids Res* 34:D717–D723. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj154>
- Jansen RC, Stam P (1994) High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136:1447–1455. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/136.4.1447>
- Jehle AK, Lipschis M, Albert M, et al (2013) The Receptor-Like Protein ReMAX of *Arabidopsis* Detects the Microbe-Associated Molecular Pattern eMax from *Xanthomonas*. *Plant Cell* 25:2330–2340. <https://doi.org/10.1105/TPC.113.110833>
- Jena KK, Kim SM, Suh JP, et al (2012) Identification of Cold-Tolerant Breeding Lines by Quantitative Trait Loci Associated with Cold Tolerance in Rice. *Crop Sci* 52:517–523. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI2010.12.0733>
- Jeworutzki E, Roelfsema MRG, Anschutz U, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2010.04155.X>
- Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Jia Y, McAdams SA, Bryan GT, et al (2000) Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. *EMBO J* 19:4004–4014. <https://doi.org/10.1093/EMBOJ/19.15.4004>
- Jiang GH, Xia ZH, Zhou YL, et al (2006) Testifying the rice bacterial blight resistance gene xa5 by genetic complementation and further analyzing xa5 (Xa5) in comparison with its homolog TFIIAγ1. *Mol Genet Genomics* 275:354–366. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0091-7>
- Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al (2012) A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science* (80-) 337:816–821. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1225829>

- Jisha V, Dampanaboina L, Vadassery J, et al (2015) Overexpression of an AP2/ERF Type Transcription Factor OsERE1BP1 Confers Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Rice. *PLoS One* 10:e0127831. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127831>
- Johnson WC, Menéndez C, Nodari R, et al (1996) Association of a seed weight factor with the phaseolin seed storage protein locus across genotypes, environments, and genomes in *Phaseolus-Vigna* spp.: Sax (1923) revisited. *J Agric Genomics* 2:1–19
- Jones DA, Thomas CM, Hammond-Kosack KE, et al (1994) Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science* (80-) 266:789–793. <https://doi.org/10.1126/science.7973631>
- Jones JDG, Dangl JL (2006) The plant immune system. *Nature* 444:323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Jones MP, Jeutong F, Tchatchoua J (1991) Diseases of rice in Cameroon. *Int Rice Res Newsl* 16:19–20
- Jones RK (1989) Identification of Low-Virulence Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* from Rice in the United States . *Phytopathology* 79:984. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-79-984>
- Joosten MHAI, De Wit PJGM (1999) The tomato-*Cladosporium fulvum* interaction: A versatile experimental system to study plant-pathogen interactions. *Annu Rev Phytopathol* 37:335–367. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.37.1.335>
- Jung KH, An G, Ronald PC (2008) Towards a better bowl of rice: Assigning function to tens of thousands of rice genes. *Nat Rev Genet* 9:91–101. <https://doi.org/10.1038/nrg2286>
- Kachroo A, Robin GP (2013) Systemic signaling during plant defense. *Curr Opin Plant Biol* 16:527–533. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2013.06.019>
- Kadota Y, Liebrand TWH, Goto Y, et al (2019) Quantitative phosphoproteomic analysis reveals common regulatory mechanisms between effector- and PAMP-triggered immunity in plants. *New Phytol* 221:2160–2175. <https://doi.org/10.1111/NPH.15523>
- Kadota Y, Sklenar J, Derbyshire P, et al (2014) Direct Regulation of the NADPH Oxidase RBOHD by the PRR-Associated Kinase BIK1 during Plant Immunity. *Mol Cell* 54:43–55. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2014.02.021>
- Kao CH, Zeng ZB, Teasdale RD (1999) Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics* 152:1203–1216. <https://doi.org/10.1093/genetics/152.3.1203>
- Katzen F, Ferreira DU, Oddo CG, et al (1998) *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* gum mutants: Effects on xanthan biosynthesis and plant virulence. *J Bacteriol* 180:1607–1617. <https://doi.org/10.1128/JB.180.7.1607-1617.1998>
- Kawahara Y, de la Bastide M, Hamilton JP, et al (2013) Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. *Rice* 6:4. <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-4>

- Kay S, Hahn S, Marois E, et al (2007) A Bacterial Effector Acts as a Plant Transcription Factor and Induces a Cell Size Regulator. *Science* (80-) 318:648–651. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1144956>
- Kemp BP, Horne J, Bryant A, Cooper RM (2004) *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* gumD gene is essential for EPS production and pathogenicity and enhances epiphytic survival on cassava (*Manihot esculenta*). *Physiol Mol Plant Pathol* 64:209–218. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2004.08.007>
- Kersey PJ, Allen JE, Armean I, et al (2016) Ensembl Genomes 2016: More genomes, more complexity. *Nucleic Acids Res* 44:D574–D580. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1209>
- Kim DS, Hwang BK (2014) An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (PAL1) in salicylic acid-dependent signalling of the defence response to microbial pathogens. *J Exp Bot* 65:2295–2306. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU109>
- Kim J-G, Li X, Roden JA, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.063123>
- Kim JG, Stork W, Mudgett MB (2013) *Xanthomonas* type III effector XopD desumoylates tomato transcription factor SlERF4 to suppress ethylene responses and promote pathogen growth. *Cell Host Microbe* 13:143–154. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.01.006>
- Kim JG, Taylor KW, Hotson A, et al (2008) XopD SUMO protease affects host transcription, promotes pathogen growth, and delays symptom development in *Xanthomonas*-infected tomato leaves. *Plant Cell* 20:1915–1929. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.058529>
- Kim S, Park J, Yeom S-I, et al (2017) New reference genome sequences of hot pepper reveal the massive evolution of plant disease-resistance genes by retroduplication. *Genome Biol* 2017 18:1–11. <https://doi.org/10.1186/S13059-017-1341-9>
- Kimura S, Hunter K, Vaahera L, et al (2020) CRK2 and C-terminal Phosphorylation of NADPH Oxidase RBOHD Regulate Reactive Oxygen Species Production in Arabidopsis. *Plant Cell* 32:1063–1080. <https://doi.org/10.1105/TPC.19.00525>
- Kim S-M, Suh J-P, Qin Y, et al (2015) Identification and fine-mapping of a new resistance gene, Xa40, conferring resistance to bacterial blight races in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 2015 128:1933–1943. <https://doi.org/10.1007/S00122-015-2557-2>
- Kim SM (2018) Identification of novel recessive gene xa44(t) conferring resistance to bacterial blight races in rice by QTL linkage analysis using an SNP chip. *Theor Appl Genet* 131:2733–2743. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3187-2>
- Kim SM, Reinke RF (2019) A novel resistance gene for bacterial blight in rice, Xa43(t) identified by GWAS, confirmed by QTL mapping using a bi-parental population. *PLoS One* 14:1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211775>
- Klauser T, Pohlner J, Meyer TF (1993) The secretion pathway of IgA protease-type proteins in gram-negative bacteria. *BioEssays* 15:799–805. <https://doi.org/10.1002/BIES.950151205>

- Koch B, Callaghan MM, Tellechea-Luzardo J, et al (2020) Protein interactions within and between two F-type type IV secretion systems. *Mol Microbiol* 114:823–838. <https://doi.org/10.1111/MMI.14582>
- Kong J, Wei M, Li G, et al (2018) The cucumber mosaic virus movement protein suppresses PAMP-triggered immune responses in Arabidopsis and tobacco. *Biochem Biophys Res Commun* 498:395–401. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2018.01.072>
- Kørner CJ, Klauser D, Niehl A, et al (2013) The Immunity Regulator BAK1 Contributes to Resistance Against Diverse RNA Viruses. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-06-13-0179-R> 26:1271–1280. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-13-0179-R>
- Krannich CT, Maletzki L, Kurowsky C, Horn R (2015) Network Candidate Genes in Breeding for Drought Tolerant Crops. *Int J Mol Sci* 2015, Vol 16, Pages 16378-16400 16:16378–16400. <https://doi.org/10.3390/IJMS160716378>
- Krasileva K V., Dahlbeck D, Staskawicz BJ (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. <https://doi.org/10.1105/TPC.110.075358>
- Krattinger SG, Keller B (2016) Molecular genetics and evolution of disease resistance in cereals. *New Phytol* 212:320–332. <https://doi.org/10.1111/NPH.14097>
- Krol E, Mentzel T, Chinchilla D, et al (2010) Perception of the Arabidopsis danger signal peptide 1 involves the pattern recognition receptor AtPEPR1 and its close homologue AtPEPR2. *J Biol Chem* 285:13471–13479. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.097394>
- Kumar R, Soni M, Mondal KK (2016) XopN-T3SS effector of *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* localizes to the plasma membrane and modulates ROS accumulation events during blight pathogenesis in pomegranate. *Microbiol Res* 193:111–120. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.10.001>
- Kunze G, Zipfel C, Robatzek S, et al (2004) The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in Arabidopsis plants. *Plant Cell* 16:3496–3507. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.026765>
- Kurata N, Yamazaki Y (2006) Oryzabase. An integrated biological and genome information database for rice. *Plant Physiol* 140:12–17. <https://doi.org/10.1104/pp.105.063008>
- Laflamme B, Dillon MM, Martel A, et al (2020) The pan-genome effector-triggered immunity landscape of a host-pathogen interaction. *Science* (80-) 367:763–768. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAX4079>
- Lambert K, Bekal S (2002) Introduction to Plant-Parasitic Nematodes. *Plant Heal Instr.* <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2002-1218-01>
- Lander ES, Botstein S (1989) Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121:185. <https://doi.org/10.1093/genetics/121.1.185>

- Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>
- Le Roux C, Huet G, Jauneau A, et al (2015) A Receptor Pair with an Integrated Decoy Converts Pathogen Disabling of Transcription Factors to Immunity. *Cell* 161:1074–1088. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.04.025>
- Lebar T, Jerala R (2016) Benchmarking of TALE- and CRISPR/dCas9-Based Transcriptional Regulators in Mammalian Cells for the Construction of Synthetic Genetic Circuits. *ACS Synth Biol* 5:1050–1058. <https://doi.org/10.1021/ACSSYNBIO.5B00259>
- Lee D, Lal NK, Lin Z-JD, et al (2020) Regulation of reactive oxygen species during plant immunity through phosphorylation and ubiquitination of RBOHD. *Nat Commun* 2020 11:1–16. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15601-5>
- Lee HA, Lee HY, Seo E, et al (2017) Current understandings of plant nonhost resistance. *Mol Plant-Microbe Interact* 30:5–15. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-16-0213-CR>
- Lee KS, Rasabandith S, Angeles ER, Khush GS (2003) Inheritance of resistance to bacterial blight in 21 cultivars of rice. *Phytopathology* 93:147–152. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.2.147>
- Lee SW, Choi SH, Han SS, et al (2007) Distribution of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Strains Virulent to Xa21 in Korea. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO19998910928> 89:928–933. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.10.928>
- Leister D (2004) Tandem and segmental gene duplication and recombination in the evolution of plant disease resistance genes. *Trends Genet* 20:116–122. <https://doi.org/10.1016/J.TIG.2004.01.007>
- Levine A, Tenhaken R, Dixon R, Lamb C (1994) H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79:583–593. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90544-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90544-4)
- Lewis DH (1973) CONCEPTS IN FUNGAL NUTRITION AND THE ORIGIN OF BIOTROPHY. *Biol Rev* 48:261–277. <https://doi.org/10.1111/J.1469-185X.1973.TB00982.X>
- Lewis JD, Lee AH-Y, Hassan JA, 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* 110:18722–18727. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1315520110>
- Li F, Pignatta D, Bendix C, et al (2012) MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:1790–1795. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118282109>
- Li L, Li M, Yu L, et al (2014) The FLS2-Associated Kinase BIK1 Directly Phosphorylates the NADPH Oxidase RbohD to Control Plant Immunity. *Cell Host Microbe* 15:329–338. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2014.02.009>
- Li X, Si W, Qin Q, et al (2018) Deciphering evolutionary dynamics of SWEET genes in diverse plant lineages. *Sci Reports* 2018 8:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31589-x>

- Li YG, Hu B, Christie PJ (2019) Biological and Structural Diversity of Type IV Secretion Systems. *Microbiol Spectr* 7:. <https://doi.org/10.1128/MICROBIOLSPEC.PSIB-0012-2018>
- Liebrand TWH, van den Burg HA, Joosten MH AJ (2014) Two for all: Receptor-associated kinases SOBIR1 and BAK1. *Trends Plant Sci.* 19:123–132
- Lin Y, Fine EJ, Zheng Z, et al (2014) SAPTA: a new design tool for improving TALE nuclease activity. *Nucleic Acids Res* 42:e47–e47. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1363>
- Linares OF (2002) African rice (*Oryza glaberrima*): History and future potential. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:16360–16365. <https://doi.org/10.1073/pnas.252604599>
- Lindgren PB, Peet RC, Panopoulos NJ (1986) Gene cluster of *Pseudomonas syringae* pv. “phaseolicola” controls pathogenicity of bean plants and hypersensitivity on nonhost plants. *J Bacteriol* 168:512–522. <https://doi.org/10.1128/JB.168.2.512-522.1986>
- Liu B, Li JF, Ao Y, et al (2012a) Lysin motif-containing proteins LYP4 and LYP6 play dual roles in peptidoglycan and chitin perception in rice innate immunity. *Plant Cell* 24:3406–3419. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.102475>
- Liu C, Wu Y, Wang X (2012b) BZIP transcription factor OsbZIP52/RISBZ5: A potential negative regulator of cold and drought stress response in rice. *Planta* 235:1157–1169. <https://doi.org/10.1007/S00425-011-1564-Z/FIGURES/6>
- Liu J-Z, Horstman HD, Braun E, et al (2011a) Soybean Homologs of MPK4 Negatively Regulate Defense Responses and Positively Regulate Growth and Development. *Plant Physiol* 157:1363–1378. <https://doi.org/10.1104/PP.111.185686>
- Liu J, Elmore JM, Lin ZJD, Coaker G (2011b) A Receptor-like Cytoplasmic Kinase Phosphorylates the Host Target RIN4, Leading to the Activation of a Plant Innate Immune Receptor. *Cell Host Microbe* 9:137–146. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2011.01.010>
- Liu J, Zhang T, Jia J, Sun J (2016) The Wheat Mediator Subunit TaMED25 Interacts with the Transcription Factor TaEIL1 to Negatively Regulate Disease Resistance against Powdery Mildew. *Plant Physiol* 170:1799–1816. <https://doi.org/10.1104/PP.15.01784>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011c) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Liu W, Wang G-L (2016) Plant innate immunity in rice: a defense against pathogen infection. *Natl Sci Rev* 3:295–308. <https://doi.org/10.1093/NSR/NWW015>
- Liu Y, Zhang S (2004) Phosphorylation of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Synthase by MPK6, a Stress-Responsive Mitogen-Activated Protein Kinase, Induces Ethylene Biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 16:3386–3399. <https://doi.org/10.1105/TPC.104.026609>

- Long J, Song C, Yan F, et al (2018) Non-TAL effectors from *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* suppress peptidoglycan-triggered MAPK activation in rice. *Front Plant Sci* 871:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01857>
- Lu H, Patil P, Sluys M-A Van, et al (2008) Acquisition and Evolution of Plant Pathogenesis-Associated Gene Clusters and Candidate Determinants of Tissue-Specificity in *Xanthomonas*. *PLoS One* 3:e3828. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0003828>
- Lu X, Kracher B, Saur IML, et al (2016) Allelic barley MLA immune receptors recognize sequence-unrelated avirulence effectors of the powdery mildew pathogen. *Proc Natl Acad Sci* 113:E6486–E6495. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1612947113>
- Lund ST, Stall RE, Klee HJ (1998) Ethylene Regulates the Susceptible Response to Pathogen Infection in Tomato. *Plant Cell* 10:371–382. <https://doi.org/10.1105/TPC.10.3.371>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- M'Barek S Ben, Karisto P, Fakhfakh M, et al (2019) Improved control of *Septoria tritici* blotch in durum wheat using cultivar mixtures. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/664078>
- Ma S, Lapin D, Liu L, et al (2020) Direct pathogen-induced assembly of an NLR immune receptor complex to form a holoenzyme. *Science* (80-) 370:. <https://doi.org/10.1126/science.abe3069>
- Ma Y, Guo H, Hu L, et al (2018) Distinct modes of derepression of an *Arabidopsis* immune receptor complex by two different bacterial effectors. *Proc Natl Acad Sci* 115:10218–10227. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1811858115>
- Mackey D, Belkhadir Y, Alonso JM, et al (2003) *Arabidopsis* RIN4 Is a Target of the Type III Virulence Effector AvrRpt2 and Modulates RPS2-Mediated Resistance. *Cell* 112:379–389. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00040-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00040-0)
- Mackill DJ, Salam MA, Wang Y, Tanksley SD (1993) A major photoperiod-sensitivity gene tagged with RFLP and isozyme markers in rice. *Theor Appl Genet* 85:536–540
- Mago R, Zhang P, Vautrin S, et al (2015) The wheat Sr50 gene reveals rich diversity at a cereal disease resistance locus. *Nat Plants* 2015 112 1:1–3. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.186>
- Majer C, Hochholdinger F (2011) Defining the boundaries: structure and function of LOB domain proteins. *Trends Plant Sci* 16:47–52. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2010.09.009>
- Mak AN-S, Bradley P, Cernadas RA, et al (2012) The Crystal Structure of TAL Effector PthXo1 Bound to Its DNA Target. *Science* (80-) 335:716–719. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1216211>
- Manck-Götzenberger J, Requena N (2016) Arbuscular mycorrhiza Symbiosis Induces a Major Transcriptional Reprogramming of the Potato SWEET Sugar Transporter Family. *Front Plant Sci* 0:487. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2016.00487>

- Manser PD (1984) Rice pests in the Gabon. <https://www.cabi.org/isc/abstract/19850521097>. Accessed 14 Aug 2021
- Mansfield J, Genin S, Magori S, et al (2012) Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 13:614–629. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2012.00804.X>
- Maqbool A, Saitoh H, Franceschetti M, et al (2015) Structural basis of pathogen recognition by an integrated HMA domain in a plant NLR immune receptor. *Elife* 4:. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.08709>
- Marois E, Van Den Ackerveken G, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.7.637>
- Martin R, Qi T, Zhang H, et al (2020) Structure of the activated ROQ1 resistosome directly recognizing the pathogen effector XopQ. *Science* (80-) 370:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABD9993>
- Matsuoka M, Fukayama H, Ku MSB, Miyao M (2001) High-level expression of 4 photosynthetic genes in transgenic rice. 439–447. https://doi.org/10.1142/9789812814296_0029
- McDonald BA, Linde C (2002a) Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:349–379
- McDonald BA, Linde C (2002b) The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica* 2002 1242 124:163–180. <https://doi.org/10.1023/A:1015678432355>
- McNally KL, Childs KL, Bohnert R, et al (2009) Genomewide SNP variation reveals relationships among landraces and modern varieties of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:12273–12278. <https://doi.org/10.1073/pnas.0900992106>
- Meckler JF, Bhakta MS, Kim M-S, et al (2013) Quantitative analysis of TALE–DNA interactions suggests polarity effects. *Nucleic Acids Res* 41:4118–4128. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT085>
- Medina CA, Reyes PA, Trujillo CA, et al (2018) The role of type III effectors from *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in virulence and suppression of plant immunity. *Mol Plant Pathol* 19:593–606. <https://doi.org/10.1111/mpp.12545>
- Meng X, Zhang S (2013) MAPK cascades in plant disease resistance signaling. *Annu Rev Phytopathol* 51:245–266. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082712-102314>
- Mesarich CH, Bowen JK, Hamiaux C, Templeton MD (2015) Repeat-containing protein effectors of plant-associated organisms. *Front Plant Sci* 0:872. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00872>
- Mew TW (1992) Changes in Race Frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Response to Rice Cultivars Planted in the Philippines . *Plant Dis* 76:1029. <https://doi.org/10.1094/PD-76-1029>

- Mew TW (1989) An overview of the world bacterial blight situation. https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=G_L8pPRZmjwC&oi=fnd&pg=PA7&dq=Mew+TW.+1989.+An+overview+of+the+world+bacterial+blight+situation.+Bac-+terial+blight+of+rice,+p+7-12.+In+Bacterial+blight+of+rice:+proceedings+of+the+International+Workshop+on+Bacte. Accessed 14 Aug 2021
- Mew TW (1993) Focus on Bacterial Blight of Rice. *Plant Dis* 77:5. <https://doi.org/10.1094/PD-77-0005>
- Meyer RS, Choi JY, Sanches M, et al (2016) Domestication history and geographical adaptation inferred from a SNP map of African rice. *Nat Genet* 48:1083–1088. <https://doi.org/10.1038/ng.3633>
- Miller JC, Tan S, Qiao G, et al (2010) A TALE nuclease architecture for efficient genome editing. *Nat Biotechnol* 29:143–148. <https://doi.org/10.1038/nbt.1755>
- Miyanari Y, Ziegler-Birling C, Torres-Padilla M-E (2013) Live visualization of chromatin dynamics with fluorescent TALEs. *Nat Struct Mol Biol* 20:1321–1324. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2680>
- Mizukami T, Wakimoto S (1969) Epidemiology and Control of Bacterial Leaf Blight of Rice. *Annu Rev Phytopathol* 7:51–72. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.07.090169.000411>
- Mizuno H, Kasuga S, Kawahigashi H (2016) The sorghum SWEET gene family: stem sucrose accumulation as revealed through transcriptome profiling. *Biotechnol Biofuels* 9:1–12. <https://doi.org/10.1186/S13068-016-0546-6>
- Mondal KK, Soni M, Verma G, et al (2020) *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* depends on multiple non-TAL (Xop) T3SS effectors for its coveted growth inside the pomegranate plant through repressing the immune responses during bacterial blight development. *Microbiol Res* 240:126560. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126560>
- Mondragon-Palomino M, Gaut BS (2005) Gene Conversion and the Evolution of Three Leucine-Rich Repeat Gene Families in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Biol Evol* 22:2444–2456. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSI241>
- Moon JY, Park JM (2016) Cross-Talk in Viral Defense Signaling in Plants. *Front Microbiol* 7:2068. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.02068>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Mundt CC (2002) Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:381–410
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant59032607092911> 59:651–681. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.ARPLANT.59.032607.092911>

- Natarajkumar P, Mishra BK (2008) Molecular mapping of a novel bacterial blight resistance gene from *Oryza nivara* Mathematical models on cyber attack in wired and wireless network View project bio prospecting of genes and allele mining for abiotic stress tolerance View project
- Neff KL, Argue DP, Ma AC, et al (2013) Mojo Hand, a TALEN design tool for genome editing applications. *BMC Bioinforma* 2013 14:1–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-1>
- Ngou BPM, Ahn H-K, Ding P, et al (2020) Estradiol-inducible AvrRps4 expression reveals distinct properties of TIR-NLR-mediated effector-triggered immunity. *J Exp Bot* 71:2186–2197. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERZ571>
- Ngou BPM, Ahn H-K, Ding P, Jones JDG (2021) Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors. *Nat* 2021 5927852 592:110–115. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03315-7>
- Nguyen VN (2003) Recent development in rice production in Sub-Sahara Africa and the dissemination of NERICA. *FAO-Japanese Nihon Univ Symp Food Secur Africa*, Nihon Univ Fujisawa, Japan, 2003
- Nicaise V, Candresse T (2017) Plum pox virus capsid protein suppresses plant pathogen-associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity. *Mol Plant Pathol* 18:878–886. <https://doi.org/10.1111/MPP.12447>
- Niehl A, Wyrsh I, Boller T, Heinlein M (2016) Double-stranded RNAs induce a pattern-triggered immune signaling pathway in plants. *New Phytol* 211:1008–1019. <https://doi.org/10.1111/nph.13944>
- Niño-Liu DO, Ronald PC, Bogdanove AJ (2006) *Xanthomonas oryzae* pathovars: Model pathogens of a model crop. *Mol Plant Pathol* 7:303–324. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x>
- Niroula RK, Pucciariello C, Ho VT, et al (2012) SUB1A-dependent and -independent mechanisms are involved in the flooding tolerance of wild rice species. *Plant J* 72:282–293. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2012.05078.X>
- Noda T, Yamamoto T (2008) Reaction of *Leersia* grasses to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* collected from Japan and Asian countries. *J Gen Plant Pathol* 2008 74:395–401. <https://doi.org/10.1007/S10327-008-0118-0>
- Nomura H, Komori T, Uemura S, et al (2012) Chloroplast-mediated activation of plant immune signalling in *Arabidopsis*. *Nat Commun* 2012 31 3:1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms1926>
- Nühse TS, Bottrill AR, Jones AME, Peck SC (2007) Quantitative phosphoproteomic analysis of plasma membrane proteins reveals regulatory mechanisms of plant innate immune responses. *Plant J* 51:931–940. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2007.03192.X>
- Nühse TS, Peck SC, Hirt H, Boller T (2000) Microbial Elicitors Induce Activation and Dual Phosphorylation of the *Arabidopsis thaliana* MAPK 6 *. *J Biol Chem* 275:7521–7526. <https://doi.org/10.1074/JBC.275.11.7521>

- Ochiai H, INOUE Y, TAKEYA M, et al (2005) Genome Sequence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Suggests Contribution of Large Numbers of Effector Genes and Insertion Sequences to Its Race Diversity. *Japan Agric Res Q JARQ* 39:275–287. <https://doi.org/10.6090/JARQ.39.275>
- Ogawa T (1993) Methods and Strategy for Monitoring Race Distribution and Identification of Resistance Genes to Bacterial Leaf Blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) in Rice. *JARQ* 27:71–80
- Ogawa T (1988) Near-isogenic lines as international differentials for resistance to bacterial blight of rice. *Rice Genet Newsl* 5:106–107
- Ogawa T, Busto GA, Tabien JRE, et al (1991) Grouping of Rice Cultivars based on Reaction Pattern to Philippine Races of Bacterial Blight Pathogen (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*). *Japanese J Breed* 41:109–119. <https://doi.org/10.1270/JSBBS1951.41.109>
- Ojanen T, Helander IM, Haahtela K, et al (1993) Outer membrane proteins and lipopolysaccharides in pathovars of *Xanthomonas campestris*. *Appl Environ Microbiol* 59:4143–4151. <https://doi.org/10.1128/AEM.59.12.4143-4151.1993>
- Orjuela J, Sabot F, Chéron S, et al (2014) An extensive analysis of the African rice genetic diversity through a global genotyping. *Theor Appl Genet* 127:2211–2223. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2374-z>
- Osman HA, Ameen HH, Mohamed M, Elkelany US (2020) Efficacy of integrated microorganisms in controlling root-knot nematode *Meloidogyne javanica* infecting peanut plants under field conditions. *Bull Natl Res Cent* 2020 441 44:1–10. <https://doi.org/10.1186/S42269-020-00366-0>
- Ou SH (1985) *Rice Diseases* - Shu Huang Ou, Commonwealth Mycological Institute (Great Britain) - Google Books. [https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=-k3mewv9nMoC&oi=fnd&pg=PR1&dq=Ou,+S.H.+\(1972\)+Rice+Diseases.+Kew,+Surrey:+Commonwealth+Mycological+Institute&ots=Zmj_ryvifh&sig=_IBFY6CEqaO1J3ryoPRe7Ui9zhQ#v=onepage&q&f=false](https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=-k3mewv9nMoC&oi=fnd&pg=PR1&dq=Ou,+S.H.+(1972)+Rice+Diseases.+Kew,+Surrey:+Commonwealth+Mycological+Institute&ots=Zmj_ryvifh&sig=_IBFY6CEqaO1J3ryoPRe7Ui9zhQ#v=onepage&q&f=false). Accessed 14 Aug 2021
- Pallas V, García JA (2011) How do plant viruses induce disease? Interactions and interference with host components. *J Gen Virol* 92:2691–2705. <https://doi.org/10.1099/VIR.0.034603-0>
- Palmgren MG, Edenbrandt AK, Vedel SE, et al (2015) Are we ready for back-to-nature crop breeding? *Trends Plant Sci.* 20:155–164
- Pandey MK, Shobha Rani N, Sundaram RM, et al (2012) Improvement of two traditional Basmati rice varieties for bacterial blight resistance and plant stature through morphological and marker-assisted selection. *Mol Breed* 2012 311 31:239–246. <https://doi.org/10.1007/S11032-012-9779-7>
- Pandey SP, Somssich IE (2009) The Role of WRKY Transcription Factors in Plant Immunity. *Plant Physiol* 150:1648–1655. <https://doi.org/10.1104/PP.109.138990>

- Park JM, Park C-J, Lee S-B, et al (2001) Overexpression of the Tobacco Tsi1 Gene Encoding an EREBP/AP2-Type Transcription Factor Enhances Resistance against Pathogen Attack and Osmotic Stress in Tobacco. *Plant Cell* 13:1035–1046. <https://doi.org/10.1105/TPC.13.5.1035>
- Pedley KF, Martin GB (2005) Role of mitogen-activated protein kinases in plant immunity. *Curr Opin Plant Biol* 8:541–547. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2005.07.006>
- Pérez-Quintero AL, Lamy L, L.Gordon J, et al (2015) QueTAL: A suite of tools to classify and compare TAL effectors functionally and phylogenetically. *Front Plant Sci* 6:1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00545>
- Pérez-Quintero AL, Rodriguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Perez-Quintero AL, Szurek B (2019) A Decade Decoded: Spies and Hackers in the History of TAL Effectors Research. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100026> 57:459–481. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082718-100026>
- Petpisit V, Khush GS, Kauffman HE (1977) Inheritance of Resistance to Bacterial Blight in Rice1. *Crop Sci* 17:551–554. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI1977.0011183X001700040018X>
- Pieterse CMJ, Leon-Reyes A, Van der Ent S, Van Wees SCM (2009) Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nat Chem Biol* 2009 55 5:308–316. <https://doi.org/10.1038/nchembio.164>
- Poland JA, Balint-Kurti PJ, Wisser RJ, et al (2009) Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci.* 14:21–29
- Ponciano G, Webb K, Bai J, et al (2004) Molecular characterization of the *avrXa7* locus from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* field isolates. *Physiol Mol Plant Pathol* 64:145–153. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.08.001>
- Popov G, Fraiture M, Brunner F, Sessa G (2016) Multiple *Xanthomonas euvesicatoria* Type III Effectors Inhibit *flg22*-Triggered Immunity. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R> 29:651–660. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R>
- Portères R (1962) Berceaux Agricoles Primaires Sur Le Continent Africain. *J Afr Hist* 3:195–210. <https://doi.org/10.1017/S0021853700003030>
- Postma J, Liebrand TWH, Bi G, et al (2016) *Avr4* promotes Cf-4 receptor-like protein association with the BAK1/SERK3 receptor-like kinase to initiate receptor endocytosis and plant immunity. *New Phytol* 210:627–642. <https://doi.org/10.1111/NPH.13802>
- Potrykus (2003) *Rice Science: Innovations and Impact for Livelihood* - Google Books. https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=Bkzs5PwmRFMC&oi=fnd&pg=PA379&dq=potrykus+2003+Golden+rice&ots=BRAYjmyX4O&sig=Qcxnu2ozNPO_CpBCzdIjhma20FQ&redir_esc=y#v=onepage&q=potrykus+2003+Golden+rice&f=false. Accessed 12 Aug 2021

- Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698. <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>
- Poulin L, Raveloson H, Sester M, et al (2014) Confirmation of bacterial leaf streak caused by *xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* on rice in Madagascar. *Plant Dis* 98:1423. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-14-0132-PDN>
- Pruitt RN, Schwessinger B, Joe A, et al (2015) The rice immune receptor XA21 recognizes a tyrosine-sulfated protein from a Gram-negative bacterium. *Sci Adv* 1:e1500245. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500245>
- Purugganan MD (2019) Evolutionary Insights into the Nature of Plant Domestication. *Curr Biol* 29:R705–R714. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2019.05.053>
- Qi D, DeYoung BJ, Innes RW (2012) Structure-Function Analysis of the Coiled-Coil and Leucine-Rich Repeat Domains of the RPS5 Disease Resistance Protein. *Plant Physiol* 158:1819–1832. <https://doi.org/10.1104/PP.112.194035>
- Qiu D, Xiao J, Ding X, et al (2007) OsWRKY13 mediates rice disease resistance by regulating defense-related genes in salicylate- and jasmonate-dependent signaling. *Mol Plant Microbe Interact* 20:492–499. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0492>
- Quibod IL, Atieza-Grande G, Oreiro EG, et al (2020) The Green Revolution shaped the population structure of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *ISME J* 14:492–505. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0545-2>
- Quibod IL, Perez-Quintero A, Booher NJ, et al (2016) Effector Diversification Contributes to *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* Phenotypic Adaptation in a Semi-Isolated Environment. *Sci Rep* 6:1–11. <https://doi.org/10.1038/srep34137>
- Raghavan C, Mauleon R, Lacorte V, et al (2017) Approaches in Characterizing Genetic Structure and Mapping in a Rice Multiparental Population. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 7:1721–1730. <https://doi.org/10.1534/G3.117.042101>
- Rajeshwari R, Sonti R V. (2000) Stationary-phase variation due to transposition of novel insertion elements in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J Bacteriol* 182:4797–4802. <https://doi.org/10.1128/JB.182.17.4797-4802.2000>
- Ramakrishnan SM, Sidhu JS, Ali S, et al (2019) Molecular characterization of bacterial leaf streak resistance in hard winter wheat. *PeerJ* 2019:. <https://doi.org/10.7717/peerj.7276>
- Ranf S, Eschen-Lippold L, Pecher P, et al (2011) Interplay between calcium signalling and early signalling elements during defence responses to microbe- or damage-associated molecular patterns. *Plant J* 68:100–113. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2011.04671.X>
- Ray SK, Rajeshwari R, Sharma Y, Sonti R V. (2002) A high-molecular-weight outer membrane protein of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* exhibits similarity to non-fimbrial adhesins of

animal pathogenic bacteria and is required for optimum virulence. *Mol Microbiol* 46:637–647. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2958.2002.03188.X>

- Rayapuram N, Bonhomme L, Bigeard J, et al (2014) Identification of Novel PAMP-Triggered Phosphorylation and Dephosphorylation Events in *Arabidopsis thaliana* by Quantitative Phosphoproteomic Analysis. *J Proteome Res* 13:2137–2151. <https://doi.org/10.1021/PR401268V>
- Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020a) Genome assembly and characterization of a complex zFBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zFBED-NLR gene-containing Dis Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678. <https://doi.org/10.1101/675678>
- Read AC, Hutin M, Moscou MJ, et al (2020b) Cloning of the rice Xo1 resistance gene and interaction of the Xo1 protein with the defense-suppressing *Xanthomonas* effector Tal2h. *Mol Plant-Microbe Interact* 33:1189–1195. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-20-0131-SC>
- Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516>
- Reckhaus PM (1983) Occurrence of Bacterial Blight of Rice in Niger, West Africa. *Plant Dis* 67:1039. <https://doi.org/10.1094/PD-67-1039>
- Redditt TJ, Chung E-H, Karimi HZ, et al (2019) AvrRpm1 Functions as an ADP-Ribosyl Transferase to Modify NOI Domain-Containing Proteins, Including *Arabidopsis* and Soybean RPM1-Interacting Protein4. *Plant Cell* 31:2664–2681. <https://doi.org/10.1105/TPC.19.00020>
- Regenmortel MHV van, Fauquet CM, Bishop DHL, et al (2000) Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Virus Taxon Classif Nomencl viruses Seventh Rep Int Comm Taxon Viruses*
- Rigano LA, Siciliano F, Enrique R, et al (2007) Biofilm Formation, Epiphytic Fitness, and Canker Development in *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-20-10-1222> 20:1222–1230. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-10-1222>
- Rivas S, Thomas CM (2005) Molecular interactions between tomato and the leaf mold pathogen *Cladosporium fulvum*. *Annu Rev Phytopathol* 43:395–436. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.140224>
- Robatzek S, Bittel P, Chinchilla D, 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. <https://doi.org/10.1007/s11103-007-9173-8>
- Rodriguez-R LM, Konstantinidis KT (2016) The enveomics collection: a toolbox for specialized analyses of microbial genomes and metagenomes. <https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.1900v1>

- Romagosa I, Prada D, Moralejo MA, et al (2001) Dormancy, ABA content and sensitivity of a barley mutant to ABA application during seed development and after ripening. *J Exp Bot* 52:1499–1506. <https://doi.org/10.1093/JEXBOT/52.360.1499>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Römer P, Recht S, Strauß T, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03217.X>
- Roux F, Voisin D, Badet T, et al (2014) Resistance to phytopathogens e tutti quanti: Placing plant quantitative disease resistance on the map. *Mol Plant Pathol* 15:427–432. <https://doi.org/10.1111/MPP.12138>
- Ruh M, Briand M, Bonneau S, et al (2017) *Xanthomonas* adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. *BMC Genomics* 18:670. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4087-6>
- Ryba-White M, Notteghem JL, Leach J. (1995) Comparison of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains from Africa, North America, and Asia by restriction fragment length polymorphism analysis. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=QR9500053>. Accessed 14 Aug 2021
- Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, et al (2003) Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theor Appl Genet* 106:794–803. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1088-9>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 91 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Sano Y (1990) The genic nature of gamete eliminator in rice. *Genetics* 125:183–191. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/125.1.183>
- Sarris PF, Duxbury Z, Huh SU, et al (2015) A Plant Immune Receptor Detects Pathogen Effectors that Target WRKY Transcription Factors. *Cell* 161:1089–1100. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.04.024>
- Sasaki T, Burr B (2000) International Rice Genome Sequencing Project: The effort to completely sequence the rice genome. *Curr Opin Plant Biol* 3:138–142. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)00047-3](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)00047-3)
- Sax K (1923) The Association of Size Differences with Seed-Coat Pattern and Pigmentation in *PHASEOLUS VULGARIS*. *Genetics* 8:552

- Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol* 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>
- Schirawski J, Perlin MH (2018) Plant–microbe interaction 2017—the good, the bad and the diverse. *Int J Mol Sci* 19:. <https://doi.org/10.3390/ijms19051374>
- Schornack S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>
- Schornack S, Peter K, Bonas U, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-1215>
- Schultink A, Qi T, Bally J, Staskawicz B (2019) Using forward genetics in *Nicotiana benthamiana* to uncover the immune signaling pathway mediating recognition of the *Xanthomonas perforans* effector XopJ4. *New Phytol* 221:1001–1009. <https://doi.org/10.1111/NPH.15411>
- Schwartz AR, Morbitzer R, Lahaye T, Staskawicz BJ (2017) TALE-induced bHLH transcription factors that activate a pectate lyase contribute to water soaking in bacterial spot of tomato. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114:E897–E903. <https://doi.org/10.1073/pnas.1620407114>
- Semon M, Nielsen R, Jones MP, McCouch SR (2005) The Population Structure of African Cultivated Rice *Oryza glaberrima* (Steud.). *Genetics* 169:1639–1647. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.033175>
- Serra H, Choi K, Zhao X, et al (2018) Interhomolog polymorphism shapes meiotic crossover within RAC1 and RPP13 disease resistance genes. *bioRxiv* 290478. <https://doi.org/10.1101/290478>
- Serrano M, Coluccia F, Torres M, et al (2014) The cuticle and plant defense to pathogens. *Front Plant Sci* 0:274. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00274>
- Seto D, Koulena N, Lo T, et al (2017) Expanded type III effector recognition by the ZAR1 NLR protein using ZED1-related kinases. *Nat Plants* 2017 34 3:1–4. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.27>
- Shao F, Golstein C, Ade J, et al (2003) Cleavage of *Arabidopsis* PBS1 by a Bacterial Type III Effector. *Science* (80-) 301:1230–1233. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1085671>
- Shen X, LIU H, YUAN B, et al (2011) OsEDR1 negatively regulates rice bacterial resistance via activation of ethylene biosynthesis. *Plant Cell Environ* 34:179–191. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2010.02219.X>
- Shibata Y, Kawakita K, Takemoto D (2010) Age-Related Resistance of *Nicotiana benthamiana* Against Hemibiotrophic Pathogen *Phytophthora infestans* Requires Both Ethylene- and Salicylic Acid–Mediated Signaling Pathways. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-23-9-1130> 23:1130–1142. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-9-1130>

- Shimizu T, Nakano T, Takamizawa D, et al (2010) Two LysM receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice. *Plant J* 64:204–214. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04324.x>
- Shivaprasad P V., Chen HM, Patel K, et al (2012) A microRNA superfamily regulates nucleotide binding site-leucine-rich repeats and other mRNAs. *Plant Cell* 24:859–874. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.095380>
- Si M, Wang Y, Zhang B, et al (2017a) The Type VI Secretion System Engages a Redox-Regulated Dual-Functional Heme Transporter for Zinc Acquisition. *Cell Rep* 20:949–959. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2017.06.081>
- Si M, Zhao C, Burkinshaw B, et al (2017b) Manganese scavenging and oxidative stress response mediated by type VI secretion system in *Burkholderia thailandensis*. *Proc Natl Acad Sci* 114:E2233–E2242. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1614902114>
- Sidhu GS, Khush GS, Mew TW (1978) Genetic analysis of bacterial blight resistance in seventy-four cultivars of rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 1978 533 53:105–111. <https://doi.org/10.1007/BF00272687>
- Sigee DC (1993) *Bacterial Plant Pathology*. *Bact Plant Pathol*. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511525476>
- Silva L da C e, Cruz CD, Moreira MA, Barros EG de (2007) Simulation of population size and genome saturation level for genetic mapping of recombinant inbred lines (RILs). *Genet Mol Biol* 30:1101–1108. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572007000600013>
- Simpson AJG, Reinach FC, Arruda P, et al (2000) The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Nat* 2000 4066792 406:151–157. <https://doi.org/10.1038/35018003>
- Singh DV, Banerjee AK, Kishun R, Abidi AB (1980) Effect of bacterial leaf streak on the quantitative and qualitative characters of rice. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301294453>. Accessed 14 Aug 2021
- Slootweg EJ, Spiridon LN, Roosien J, et al (2013) Structural Determinants at the Interface of the ARC2 and Leucine-Rich Repeat Domains Control the Activation of the Plant Immune Receptors Rx1 and Gpa2. *Plant Physiol* 162:1510–1528. <https://doi.org/10.1104/PP.113.218842>
- Soller M, Brody T, Genizi A (1976) On the power of experimental designs for the detection of linkage between marker loci and quantitative loci in crosses between inbred lines. *Theor Appl Genet* 47:35–39. <https://doi.org/10.1007/BF00277402>
- Song C, Yang B (2010) Mutagenesis of 18 type III effectors reveals virulence function of XopZPXO99in *xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant-Microbe Interact* 23:893–902. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-7-0893>
- Soreng RJ, Peterson PM, Romaschenko K, et al (2015) A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). *J Syst Evol* 53:117–137. <https://doi.org/10.1111/jse.12150>

- Spoel SH, Dong X (2012) How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nat Rev Immunol* 2012 122 12:89–100. <https://doi.org/10.1038/nri3141>
- Spoel SH, Johnson JS, Dong X (2007) Regulation of tradeoffs between plant defenses against pathogens with different lifestyles. *Proc Natl Acad Sci* 104:18842–18847. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0708139104>
- St.clair DA (2010) Quantitative disease resistance and quantitative resistance loci in breeding. *Annu Rev Phytopathol* 48:247–268. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081904>
- Stam R, Scheikl D, Tellier A (2016) Pooled Enrichment Sequencing Identifies Diversity and Evolutionary Pressures at NLR Resistance Genes within a Wild Tomato Population. *Genome Biol Evol* 8:1501–1515. <https://doi.org/10.1093/GBE/EVW094>
- Stam R, Silva-Arias GA, Tellier A (2019) Subsets of NLR genes show differential signatures of adaptation during colonization of new habitats. *New Phytol* 224:367–379. <https://doi.org/10.1111/NPH.16017>
- Starr MP (1981) The Genus *Xanthomonas*. *The Prokaryotes* 742–763. https://doi.org/10.1007/978-3-662-13187-9_62
- Stein JC, Yu Y, Copetti D, et al (2018) Genomes of 13 domesticated and wild rice relatives highlight genetic conservation, turnover and innovation across the genus *Oryza*. *Nat Genet* 50:285–296. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0040-0>
- Stergiopoulos I, De Wit PJGM (2009) Fungal Effector Proteins. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto.112408132637> 47:233–263. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.112408.132637>
- Stingl K, Müller S, Scheidgen-Kleyboldt G, et al (2010) Composite system mediates two-step DNA uptake into *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci* 107:1184–1189. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0909955107>
- Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW (2002) Biofilms as Complex Differentiated Communities. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.micro.56012302160705> 56:187–209. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.MICRO.56.012302.160705>
- Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>
- Streubel J, Blücher C, Landgraf A, Boch J (2012) TAL effector RVD specificities and efficiencies. *Nat Biotechnol* 30:593–595. <https://doi.org/10.1038/nbt.2304>
- Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>
- Sturtevant AH (1913) The linear arrangement of six sex linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *J Exp Zool* 14:43–59. <https://doi.org/10.1002/jez.1400140104>

- Su J, Yang L, Zhu Q, et al (2018) Active photosynthetic inhibition mediated by MPK3/MPK6 is critical to effector-triggered immunity. *PLOS Biol* 16:e2004122. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.2004122>
- Sugano S, Sugimoto T, Takatsuji H, Jiang C-J (2013) Induction of resistance to *Phytophthora sojae* in soyabean (*Glycine max*) by salicylic acid and ethylene. *Plant Pathol* 62:1048–1056. <https://doi.org/10.1111/PPA.12011>
- Sugio A, Yang B, Zhu T, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701742104>
- Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) *Xa26*, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>
- Sun Y, Li L, Macho AP, et al (2013) Structural basis for *flg22*-induced activation of the *Arabidopsis* FLS2-BAK1 immune complex. *Science* (80-) 342:624–628. <https://doi.org/10.1126/science.1243825>
- Sundaram RM, Vishnupriya MR, Biradar SK, et al (2007) Marker assisted introgression of bacterial blight resistance in Samba Mahsuri, an elite indica rice variety. *Euphytica* 2007 1603 160:411–422. <https://doi.org/10.1007/S10681-007-9564-6>
- Sweeney M, McCouch S (2007) The Complex History of the Domestication of Rice. *Ann Bot* 100:951–957. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm128>
- Swings J, Mooter M Van Den, Vauterin L, et al (1990) Reclassification of the causal agents of bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of rice as pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev. *Int J Syst Bacteriol* 40:309–311. <https://doi.org/10.1099/00207713-40-3-309>
- Szczesny R, Jordan M, Schramm C, et al (2010) Functional characterization of the Xcs and Xps type II secretion systems from the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *New Phytol* 187:983–1002. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03312.X>
- Szurek B, Rossier O, Hause G, Bonas U (2002) Type III-dependent translocation of the *Xanthomonas* AvrBs3 protein into the plant cell. *Mol Microbiol* 46:13–23. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03139.x>
- Tagami Y, Mizukami T (1962) Historical review of the researches on bacterial blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* (Uyede and Ishiyama) Dowson. *Spec Rep Plant Dis Ins Pests Forecast Serv* 10:112
- Taheri P, Tarighi S (2010) Riboflavin induces resistance in rice against *Rhizoctonia solani* via jasmonate-mediated priming of phenylpropanoid pathway. *J Plant Physiol* 167:201–208. <https://doi.org/10.1016/J.JPLPH.2009.08.003>

- Takai R, Isogai A, Takayama S, Che FS (2008) Analysis of flagellin perception mediated by flg22 receptor OsFLS2 in rice. *Mol Plant-Microbe Interact* 21:1635–1642. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-12-1635>
- Takken FL, Albrecht M, Tameling W IL, et al (2006) Resistance proteins: molecular switches of plant defence. *9:383–390*. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2006.05.009>
- Takken FLW, Goverse A (2012) How to build a pathogen detector: structural basis of NB-LRR function. *Curr Opin Plant Biol* 15:375–384. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2012.05.001>
- Tameling WIL, Vossen JH, Albrecht M, et al (2006) Mutations in the NB-ARC Domain of I-2 That Impair ATP Hydrolysis Cause Autoactivation. *Plant Physiol* 140:1233–1245. <https://doi.org/10.1104/PP.105.073510>
- Tan GX, Ren X, Weng QM, et al (2004) Mapping of a new resistance gene to bacterial blight in rice line introgressed from *Oryza officinalis*. *Acta Genet Sin* 31:724–729
- Tao Z, Liu H, Qiu D, et al (2009) A pair of allelic WRKY genes play opposite roles in rice-bacteria interactions. *Plant Physiol* 151:936–948. <https://doi.org/10.1104/PP.109.145623>
- Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>
- Thiemele D, Albar L, Perez S, et al (2008) Diversité de gènes de résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV) chez l'espèce africaine du riz cultivé *O. glaberrima* Steud-fdi:010043928- Horizon. <https://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:010043928>. Accessed 12 Aug 2021
- Thomas CM, Dixon MS, Parniske M, et al (1998) Genetic and molecular analysis of tomato Cf genes for resistance to *Cladosporium fulvum*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 353:1413–1424. <https://doi.org/10.1098/RSTB.1998.0296>
- Tian D, Wang J, Zeng 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>
- Timilsina S, Potnis N, Newberry EA, et al (2020) *Xanthomonas* diversity, virulence and plant–pathogen interactions. *Nat Rev Microbiol* 18:415–427. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0361-8>
- Tintor N, Ross A, Kanehara K, et al (2013) Layered pattern receptor signaling via ethylene and endogenous elicitor peptides during Arabidopsis immunity to bacterial infection. *Proc Natl Acad Sci* 110:6211–6216. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1216780110>
- Torres MA, Dangl JL, Jones JDG (2002) Arabidopsis gp91phox homologues AtrbohD and AtrbohF are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response. *Proc Natl Acad Sci* 99:517–522. <https://doi.org/10.1073/PNAS.012452499>

- Torres PS, Malamud F, Rigano LA, et al (2007) Controlled synthesis of the DSF cell–cell signal is required for biofilm formation and virulence in *Xanthomonas campestris*. *Environ Microbiol* 9:2101–2109. <https://doi.org/10.1111/J.1462-2920.2007.01332.X>
- Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice. *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>
- Trdá L, Fernandez O, Boutrot F, 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. <https://doi.org/10.1111/nph.12592>
- Trinh T. (1980) New rice diseases and insects in the Senegal River basin in 1978/79. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19806734835>. Accessed 14 Aug 2021
- Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger 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. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>
- Triplett LR, Verdier V, Campillo T, et al (2015) Characterization of a novel clade of *Xanthomonas* isolated from rice leaves in Mali and proposal of *Xanthomonas maliensis* sp. nov. *Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol* 107:869–881
- Tsuda K, Mine A, Bethke G, et al (2013) Dual Regulation of Gene Expression Mediated by Extended MAPK Activation and Salicylic Acid Contributes to Robust Innate Immunity in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS Genet* 9:e1004015. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1004015>
- Ueno Y, Yoshida R, Kishi-Kaboshi M, et al (2015) Abiotic Stresses Antagonize the Rice Defence Pathway through the Tyrosine-Dephosphorylation of OsMPK6. *PLOS Pathog* 11:e1005231. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1005231>
- Üstün S, Börnke F (2014) Interactions of *Xanthomonas* type-III effector proteins with the plant ubiquitin and ubiquitin-like pathways. *Front Plant Sci* 0:736. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00736>
- Van Andel T (2010) African Rice (*Oryza glaberrima* Steud.): Lost Crop of the Enslaved Africans Discovered in Suriname1. *Econ Bot* 2010 641 64:1–10. <https://doi.org/10.1007/S12231-010-9111-6>
- Van de Weyer AL, Monteiro F, Furzer OJ, et al (2019) A Species-Wide Inventory of NLR Genes and Alleles in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 178:1260-1272.e14. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.07.038>
- Van Der Hoorn RAL, Kamoun S (2008) From guard to decoy: A new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell* 20:2009–2017. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.060194>

- Van Wees SC, Van der Ent S, Pieterse CM (2008) Plant immune responses triggered by beneficial microbes. *Curr Opin Plant Biol* 11:443–448. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2008.05.005>
- Vaughan DA, Lu BR, Tomooka N (2008) The evolving story of rice evolution. *Plant Sci* 174:394–408. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.01.016>
- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Triplett LR, Hummel AW, et al (2012) Transcription activator-like (TAL) effectors targeting OsSWEET genes enhance virulence on diverse rice (*Oryza sativa*) varieties when expressed individually in a TAL effector-deficient strain of *Xanthomonas oryzae*. *New Phytol* 196:1197–1207. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2012.04367.X>
- Verma G, Mondal KK, Kulshreshtha A, Sharma M (2019) XopR T3SS-effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* suppresses cell death-mediated plant defense response during bacterial blight development in rice. *3 Biotech* 9:272. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1802-9>
- Vikal Y, Bhatia D (2017) Genetics and Genomics of Bacterial Blight Resistance in Rice. In: *Advances in International Rice Research*. InTech
- Vleeshouwers V, Oliver R (2014) Effectors as tools in disease resistance breeding against biotrophic, hemibiotrophic, and necrotrophic plant pathogens. *Mol Plant Microbe Interact* 27:196–206. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-13-0313-IA>
- Vojnov AA, Zorreguieta A, Dow JM, et al (1998) Evidence for a role for the gumB and gumC gene products in the formation of xanthan from its pentasaccharide repeating unit by *Xanthomonas campestris*. *Microbiology* 144:1487–1493. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-6-1487>
- Vorhölter F-J, Niehaus K, Pühler A (2001) Lipopolysaccharide biosynthesis in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*: a cluster of 15 genes is involved in the biosynthesis of the LPS O-antigen and the LPS core. *Mol Genet Genomics* 201 266:79–95. <https://doi.org/10.1007/S004380100521>
- Voytas DF, Joung JK (2009) DNA Binding Made Easy. *Science* (80-) 326:1491–1492. <https://doi.org/10.1126/science.1183604>
- Waksman G (2019) From conjugation to T4S systems in Gram-negative bacteria: a mechanistic biology perspective. *EMBO Rep* 20:e47012. <https://doi.org/10.15252/EMBR.201847012>
- Wang C, Chen S, Feng A, et al (2021) Xa7, a Small Orphan Gene Harboring Promoter Trap for AvrXa7, Leads to the Durable Resistance to *Xanthomonas oryzae* Pv. *oryzae*. *Rice* 14:48. <https://doi.org/10.1186/s12284-021-00490-z>
- Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014a) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>

- Wang C, Wen G, Lin X, et al (2009) Identification and fine mapping of the new bacterial blight resistance gene, Xa31(t), in rice. *Eur J Plant Pathol* 123:235–240. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9356-4>
- Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015a) XA23 Is an executor protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>
- Wang D, Pan Y, Zhao X, et al (2011) Genome-wide temporal-spatial gene expression profiling of drought responsiveness in rice. *BMC Genomics* 2011 12:1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-149>
- Wang G, Ding X, Yuan M, et al (2006) Dual function of rice OsDR8 gene in disease resistance and thiamine accumulation. *Plant Mol Biol* 60:437–449. <https://doi.org/10.1007/S11103-005-4770-X>
- Wang G, Roux B, Feng F, 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. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2015.08.004>
- Wang JJ, Hu M, Wang JJ, et al (2019a) Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science* (80-) 364:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAV5870>
- Wang JJ, Wang JJ, Hu M, et al (2019b) Ligand-triggered allosteric ADP release primes a plant NLR complex. *Science* (80-) 364:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAV5868>
- Wang L, Rinaldi FC, Singh P, et al (2017) TAL Effectors Drive Transcription Bidirectionally in Plants. *Mol Plant* 10:285–296. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.12.002>
- Wang L, Zhao L, Zhang X, et al (2019c) Large-scale identification and functional analysis of NLR genes in blast resistance in the Tetep rice genome sequence. *Proc Natl Acad Sci* 116:18479–18487. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1910229116>
- Wang M, Yu Y, Haberer G, et al (2014b) The genome sequence of African rice (*Oryza glaberrima*) and evidence for independent domestication. *Nat Genet* 46:982–988. <https://doi.org/10.1038/ng.3044>
- Wang T, Si M, Song Y, et al (2015c) Type VI Secretion System Transports Zn²⁺ to Combat Multiple Stresses and Host Immunity. *PLOS Pathog* 11:e1005020. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1005020>
- Weaver LM, Swiderski MR, Li Y, Jones JDG (2006) The Arabidopsis thaliana TIR-NB-LRR R-protein, RPP1A; protein localization and constitutive activation of defence by truncated alleles in tobacco and Arabidopsis. *Plant J* 47:829–840. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2006.02834.X>
- Webb KM, Oña I, Bai J, et al (2010) A benefit of high temperature: increased effectiveness of a rice bacterial blight disease resistance gene. *New Phytol* 185:568–576. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2009.03076.X>

- Wei X, Liu F, Chen C, et al (2014) The *Malus domestica* sugar transporter gene family: identifications based on genome and expression profiling related to the accumulation of fruit sugars. *Front Plant Sci* 0:569. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00569>
- Wichmann G, Bergelson J (2004) Effector Genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* Promote Transmission and Enhance Other Fitness Traits in the Field. *Genetics* 166:693–706. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/166.2.693>
- Williams SJ, Sornaraj P, deCourcy-Ireland E, et al (2011) An Autoactive Mutant of the M Flax Rust Resistance Protein Has a Preference for Binding ATP, Whereas Wild-Type M Protein Binds ADP. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-03-11-0052> 24:897–906. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-11-0052>
- Willmann R, Lajunen HM, Erbs G, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112862108>
- Wing RA, Ammiraju JSS, Luo M, et al (2005) The *Oryza* map alignment project: The golden path to unlocking the genetic potential of wild rice species. *Plant Mol Biol* 59:53–62. <https://doi.org/10.1007/s11103-004-6237-x>
- Wonni I, Detemmerman L, Dao S, et al (2011) Genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* from West Africa — ILVO. <https://pureportal.ilvo.be/nl/publications/genetic-diversity-of-emxanthomonas-oryzae-empv-emoryzicolaem-from>. Accessed 14 Aug 2021
- Wood DW, Setubal JC, Kaul R, et al (2001) The Genome of the Natural Genetic Engineer *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* (80-) 294:2317–2323. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1066804>
- Wu L, Mei LG, Sreekala C, 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. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123356>
- Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x>
- Xiao J, Cheng H, Li X, et al (2013) Rice WRKY13 regulates cross talk between abiotic and biotic stress signaling pathways by selective binding to different cis-elements. *Plant Physiol* 163:1868–1882. <https://doi.org/10.1104/PP.113.226019>
- Xiao J, Grandlillo S, Sang Nag Ahn, et al (1996) Genes from wild rice improve yield. *Nature* 384:223–224. <https://doi.org/10.1038/384223a0>
- Xiao W, Liu H, Li Y, et al (2009) A rice gene of de novo origin negatively regulates pathogen-induced defense response. *PLoS One* 4:. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0004603>
- Xie Z, Nolan TM, Jiang H, Yin Y (2019) AP2/ERF transcription factor regulatory networks in hormone and abiotic stress responses in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 10:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00228>

- Xu D, Xue Q, McElroy D, et al (1996) Constitutive expression of a cowpea trypsin inhibitor gene, CpTi, in transgenic rice plants confers resistance to two major rice insect pests. *Mol Breed* 1996 22 2:167–173. <https://doi.org/10.1007/BF00441431>
- Yamada K, Yamaguchi K, Shirakawa T, et al (2016) The Arabidopsis CERK1-associated kinase PBL27 connects chitin perception to MAPK activation. *EMBO J* 35:2468–2483. <https://doi.org/10.15252/EMBJ.201694248>
- Yamaguchi K, Yamada K, Ishikawa K, et al (2013) A receptor-like cytoplasmic kinase targeted by a plant pathogen effector is directly phosphorylated by the chitin receptor and mediates rice immunity. *Cell Host Microbe* 13:347–357. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.02.007>
- Yamaguchi Y, Huffaker A, Bryan AC, et al (2010) PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in Arabidopsis. *Plant Cell* 22:508–522. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.068874>
- Yamaguchi Y, Pearce G, Ryan CA (2006) The cell surface leucine-rich repeat receptor for AtPep1, an endogenous peptide elicitor in Arabidopsis, is functional in transgenic tobacco cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10104–10109. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603729103>
- Yan H, Zhao Y, Shi H, et al (2018) BRASSINOSTEROID-SIGNALING KINASE1 Phosphorylates MAPKKK5 to Regulate Immunity in Arabidopsis. *Plant Physiol* 176:2991–3002. <https://doi.org/10.1104/PP.17.01757>
- Yang B, Bogdanove A (2013) Inoculation and Virulence Assay for Bacterial Blight and Bacterial Leaf Streak of Rice. *Methods Mol Biol* 956:249–255. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-194-3_18
- Yang B, Sugio A, White FF (2006) Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10503–10508. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604088103>
- Yang B, Zhu W, Johnson LB, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.170286897>
- Yang H, Gou X, He K, et al (2010) BAK1 and BKK1 in Arabidopsis thaliana confer reduced susceptibility to turnip crinkle virus. *Eur J Plant Pathol* 2010 1271 127:149–156. <https://doi.org/10.1007/S10658-010-9581-5>
- Yang JW, Yi HS, Kim H, et al (2011) Whitefly infestation of pepper plants elicits defence responses against bacterial pathogens in leaves and roots and changes the below-ground microflora. *J Ecol* 99:46–56. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01756.x>
- Yang Y, Feyter R De, Gabriel DW (1994) Host-Specific Symptoms and Increased Release of *Xanthomonas citri* and *X. campestris* pv. *malvacearum* from Leaves Are Determined by the 102-bp Tandem Repeats of *pthA* and *avrB6*, Respectively. *American Phytopathological Society*

- Yang Y, Gabriel DW (1995) Intragenic recombination of a single plant pathogen gene provides a mechanism for the evolution of new host specificities. *J Bacteriol* 177:4963–4968. <https://doi.org/10.1128/JB.177.17.4963-4968.1995>
- Yeats TH, Rose JKC (2013) The Formation and Function of Plant Cuticles. *Plant Physiol* 163:5–20. <https://doi.org/10.1104/PP.113.222737>
- Yonemaru JI, Ebana K, Yano M (2014) HapRice, an SNP haplotype database and a web tool for rice. *Plant Cell Physiol* 55:e9–e9. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct188>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Yoshimura S, Yoshimura A, Iwata N, et al (1995) Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers. *Mol Breed* 1:375–387. <https://doi.org/10.1007/BF01248415>
- Yu J, Hu S, Wang J, et al (2002) A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica). *Science* (80-) 296:79–92. <https://doi.org/10.1126/science.1068037>
- Yuan M, Jiang Z, Bi G, et al (2021) Pattern-recognition receptors are required for NLR-mediated plant immunity. *Nat* 2021 5927852 592:105–109. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03316-6>
- Yuan M, Ke Y, Huang R, et al (2016) A host basal transcription factor is a key component for infection of rice by TALE-carrying bacteria. *Elife* 5:. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.19605>
- Yue J-X, Meyers BC, Chen J-Q, et al (2012) Tracing the origin and evolutionary history of plant nucleotide-binding site–leucine-rich repeat (NBS-LRR) genes. *New Phytol* 193:1049–1063. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2011.04006.X>
- Yun MH, Torres PS, Oirdi M El, et al (2006) Xanthan Induces Plant Susceptibility by Suppressing Callose Deposition. *Plant Physiol* 141:178–187. <https://doi.org/10.1104/PP.105.074542>
- Zaka A, Grande G, Coronejo T, et al (2018) Natural variations in the promoter of OsSWEET13 and OsSWEET14 expand the range of resistance against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *PLoS One* 13:e0203711. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0203711>
- Zeng ZB (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136:1457–1468. <https://doi.org/10.1093/genetics/136.4.1457>
- Zhai J, Jeong DH, de Paoli E, et al (2011) MicroRNAs as master regulators of the plant NB-LRR defense gene family via the production of phased, trans-acting siRNAs. *Genes Dev* 25:2540–2553. <https://doi.org/10.1101/gad.177527.111>
- Zhang B, Zhang H, Li F, et al (2020) Multiple Alleles Encoding Atypical NLRs with Unique Central Tandem Repeats in Rice Confer Resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Commun* 1:. <https://doi.org/10.1016/J.XPLC.2020.100088>

- Zhang F, Zhuo D-L, Zhang F, et al (2015) Xa39, a novel dominant gene conferring broad-spectrum resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice. *Plant Pathol* 64:568–575. <https://doi.org/10.1111/PPA.12283>
- Zhang G, Chen M, Li L, et al (2009) Overexpression of the soybean GmERF3 gene, an AP2/ERF type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco. *J Exp Bot* 60:3781–3796. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp214>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>
- Zhang J, Shao F, Li Y, et al (2007) A *Pseudomonas syringae* Effector Inactivates MAPKs to Suppress PAMP-Induced Immunity in Plants. *Cell Host Microbe* 1:175–185. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2007.03.006>
- Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>
- Zhang L, Li H, Wang J (2012) The Statistical Power of Inclusive Composite Interval Mapping in Detecting Digenic Epistasis Showing Common F2 Segregation Ratios. *J Integr Plant Biol* 54:270–279. <https://doi.org/10.1111/J.1744-7909.2012.01110.X>
- Zhang Q, Chen Q, Wang S, et al (2014) Rice and cold stress: methods for its evaluation and summary of cold tolerance-related quantitative trait loci. *Rice* 2014 71 7:1–12. <https://doi.org/10.1186/S12284-014-0024-3>
- Zhang Q, Liang Z, Cui X, et al (2018) N6-Methyladenine DNA Methylation in Japonica and Indica Rice Genomes and Its Association with Gene Expression, Plant Development, and Stress Responses. *Mol Plant* 11:1492–1508. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2018.11.005>
- Zhang Y, Xia R, Kuang H, Meyers BC (2016) The Diversification of Plant NBS-LRR Defense Genes Directs the Evolution of MicroRNAs That Target Them. *Mol Biol Evol* 33:2692–2705. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSW154>
- Zhao H, Yao W, Ouyang Y, et al (2015) RiceVarMap: A comprehensive database of rice genomic variations. *Nucleic Acids Res* 43:D1018–D1022. <https://doi.org/10.1093/nar/gku894>
- Zheng CK, WANG CL, YU YJ, et al (2009) Identification and Molecular Mapping of Xa32(t), a Novel Resistance Gene for Bacterial Blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) in Rice. *Acta Agron Sin* 35:1173–1180. [https://doi.org/10.1016/S1875-2780\(08\)60089-9](https://doi.org/10.1016/S1875-2780(08)60089-9)
- Zhou J, Peng Z, Long J, et al (2015) Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. *Plant J* 82:632–643. <https://doi.org/10.1111/tpj.12838>
- Zhou Y, Yang P, Cui F, et al (2016) Transcriptome Analysis of Salt Stress Responsiveness in the Seedlings of Dongxiang Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *PLoS One* 11:e0146242. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0146242>

- Zhu S, Li Y, Vossen JH, et al (2012) Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Res* 21:89–99. <https://doi.org/10.1007/s11248-011-9510-1>
- Zhu W, Yang B, Chittoor JM, et al (1998) AvrXa10 contains an acidic transcriptional activation domain in the functionally conserved C terminus. *Mol Plant-Microbe Interact* 11:824–832. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.8.824>
- Zipfel C (2014) Plant pattern-recognition receptors. *Trends Immunol* 35:345–351. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.05.004>
- Zipfel C, Kunze G, Chinchilla D, et al (2006) Perception of the Bacterial PAMP EF-Tu by the Receptor EFR Restricts Agrobacterium-Mediated Transformation. *Cell* 125:749–760. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.03.037>
- Zipfel C, Oldroyd GED (2017) Plant signalling in symbiosis and immunity. *Nature* 543:328–336
- Zou M, Guan Y, Ren H, et al (2008) A bZIP transcription factor, OsABI5, is involved in rice fertility and stress tolerance. *Plant Mol Biol* 66:675–683. <https://doi.org/10.1007/S11103-008-9298-4>
- Zuo KJ, Qin J, Zhao JY, et al (2007) Over-expression GbERF2 transcription factor in tobacco enhances brown spots disease resistance by activating expression of downstream genes. *Gene* 391:80–90. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2006.12.019>
- Zvereva AS, Golyaev V, Turco S, et al (2016) Viral protein suppresses oxidative burst and salicylic acid-dependent autophagy and facilitates bacterial growth on virus-infected plants. *New Phytol* 211:1020–1034. <https://doi.org/10.1111/NPH.13967>

ii) Discussion

- Albar L, Lorieux M, Ahmadi N, et al (1998) Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus. I. QTLs identification and relationship between resistance and plant morphology. *Theor Appl Genet* 1998 977 97:1145–1154. <https://doi.org/10.1007/S001220051003>
- Andersen EJ, Nepal MP (2019) Diversification of Disease Resistance Receptors by Integrated Domain Fusions in Wheat and its Progenitors. *bioRxiv* 695148. <https://doi.org/10.1101/695148>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Athinuwat D, Prathuangwong S, Cursino L, Burr T (2009) *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* soybean cultivar virulence specificity is determined by avrbs3 homolog avrXgl. *Phytopathology* 99:996–1004. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-8-0996>

- Baggs E, Dagdas G, Krasileva K V. (2017) NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR IDentity. *Curr Opin Plant Biol* 38:59–67.
<https://doi.org/10.1016/J.PBI.2017.04.012>
- Ballvora A, Pierre M, Van den Ackerveken G, et al (2001) Genetic mapping and functional analysis of the tomato Bs4 locus governing recognition of the *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* AvrBs4 protein. *Mol Plant-Microbe Interact* 14:629–638.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.5.629>
- Barragan CA, Wu R, Kim ST, et al (2019) RPW8/HR repeats control NLR activation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet* 15:e1008313. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008313>
- Barrett LG, Thrall PH, Dodds PN, et al (2009) Diversity and Evolution of Effector Loci in Natural Populations of the Plant Pathogen *Melampsora lini*. *Mol Biol Evol* 26:2499–2513.
<https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSP166>
- Batut P, Gingeras TR (2013) RAMPAGE: Promoter Activity Profiling by Paired-End Sequencing of 5'-Complete cDNAs. *Curr Protoc Mol Biol* 104:25B.11.1-25B.11.16.
<https://doi.org/10.1002/0471142727.MB25B11S104>
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512.
<https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bogdanove AJ, Voytas DF (2011) TAL effectors: Customizable proteins for DNA targeting. *Science* (80-) 333:1843–1846. <https://doi.org/10.1126/science.1204094>
- Bonas U, Conrads-Strauch J, Balbo I (1993) Resistance in tomato to *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* is determined by alleles of the pepper-specific avirulence gene *avrBs3*. *Mol Gen Genet MGG* 1993 2381 238:261–269. <https://doi.org/10.1007/BF00279555>
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Brown JKM (2015) Durable Resistance of Crops to Disease: A Darwinian Perspective.
<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045914> 53:513–539.
<https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-102313-045914>
- Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- Cesari S, Bernoux M, Moncuquet P, et al (2014) A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: The “integrated decoy” hypothesis. *Front Plant Sci* 5:606.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00606>
- Chae E, Bomblies K, Kim ST, et al (2014) Species-wide Genetic Incompatibility Analysis Identifies Immune Genes as Hot Spots of Deleterious Epistasis. *Cell* 159:1341–1351.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.10.049>

- Chen S, Huang Z, Zeng L, et al (2008) High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae* resistance gene Xa7. *Mol Breed* 2008 223 22:433–441. <https://doi.org/10.1007/S11032-008-9187-1>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chu Z, Fu B, Yang H, et al (2006) Targeting xa13, a recessive gene for bacterial blight resistance in rice. *Theor Appl Genet* 112:455–461. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0145-6>
- Cook A, Guevara Y (1984) Hypersensitivity in *Capsicum chacoense* to race 1 of the bacterial spot pathogen of pepper
- Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ (2013) Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* (80-) 341:746–751. <https://doi.org/10.1126/science.1236011>
- Denancé N, Szurek B, Doyle EL, et al (2018) Two ancestral genes shaped the *Xanthomonas campestris* TAL effector gene repertoire. *New Phytol* 219:391–407. <https://doi.org/10.1111/nph.15148>
- Dong S, Stam R, Cano LM, et al (2014) Effector Specialization in a Lineage of the Irish Potato Famine Pathogen. *Science* (80-) 343:552–555. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1246300>
- Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT) 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122. <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2021) Epigenetic features improve TALE target prediction. *bioRxiv* 2021.06.14.448323
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2019) PrediTAL: A novel model learned from quantitative data allows for new perspectives on TALE targeting. *Public Library of Science*
- Erkes A, Reschke M, Boch J, Grau J (2017) Evolution of transcription activator-like effectors in *Xanthomonas oryzae*. *Genome Biol Evol* 9:1599–1699. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx108>
- Escolar L, Van Den Ackerveken G, Pieplow S, et al (2001) Type III secretion and in planta recognition of the *Xanthomonas* avirulence proteins AvrBs1 and AvrBsT. *Mol Plant Pathol* 2:287–296. <https://doi.org/10.1046/j.1464-6722.2001.00077.x>
- Ferreira RM, de Oliveira ACP, Moreira LM, et al (2015) A TALE of Transposition: Tn3-like transposons play a major role in the spread of pathogenicity determinants of *xanthomonas citri* and other *xanthomonads*. *MBio* 6:. <https://doi.org/10.1128/MBIO.02505-14>
- Flor HH (1971) Current status of the gene-for-gene concept. 275–296
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>

- González VM, Müller S, Baulcombe D, Puigdomènech P (2015) Evolution of NBS-LRR Gene Copies among Dicot Plants and its Regulation by Members of the miR482/2118 Superfamily of miRNAs. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.013>
- Grau J, Boch J, Posch S (2013) TALENoffer: genome-wide TALEN off-target prediction. *Bioinformatics* 29:2931–2932. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTT501>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Gururani MA, Venkatesh J, Upadhyaya CP, et al (2012) Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiol Mol Plant Pathol* 78:51–65. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2012.01.002>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>
- Hu Y, Zhang J, Jia H, et al (2014) Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E521–E529. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313271111>
- Huang L, Brooks S, Li W, et al (2009) Evolution of New Disease Specificity at a Simple Resistance Locus in a Crop–Weed Complex: Reconstitution of the Lr21 Gene in Wheat. *Genetics* 182:595–602. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.099614>
- Huerta AI, Delorean EE, Bossa-Castro AM, et al (2021) Resistance and susceptibility QTL identified in a rice MAGIC population by screening with a minor-effect virulence factor from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Biotechnol J* 19:51–63. <https://doi.org/10.1111/pbi.13438>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Jiang GH, Xia ZH, Zhou YL, et al (2006) Testifying the rice bacterial blight resistance gene xa5 by genetic complementation and further analyzing xa5 (Xa5) in comparison with its homolog TFIIAγ1. *Mol Genet Genomics* 275:354–366. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0091-7>
- Jordan T, Römer P, Meyer A, et al (2006) Physical delimitation of the pepper Bs3 resistance gene specifying recognition of the AvrBs3 protein from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Theor Appl Genet* 113:895–905. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0349-4>

- Kay S, Boch J, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0838>
- Kim NH, Choi HW, Hwang BK (2010) *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Effector AvrBsT Induces Cell Death in Pepper, but Suppresses Defense Responses in Tomato. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-23-8-1069> 23:1069–1082. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-8-1069>
- Kim S, Park J, Yeom S-I, et al (2017) New reference genome sequences of hot pepper reveal the massive evolution of plant disease-resistance genes by retroduplication. *Genome Biol* 2017 18:1–11. <https://doi.org/10.1186/S13059-017-1341-9>
- Krattinger SG, Keller B (2016) Molecular genetics and evolution of disease resistance in cereals. *New Phytol* 212:320–332. <https://doi.org/10.1111/NPH.14097>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al (2021) TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>
- Leister D (2004) Tandem and segmental gene duplication and recombination in the evolution of plant disease resistance genes. *Trends Genet* 20:116–122. <https://doi.org/10.1016/J.TIG.2004.01.007>
- Li F, Pignatta D, Bendix C, et al (2012) MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:1790–1795. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118282109>
- Li P, Long J, Huang Y, et al (2004) AvrXa3 : A novel member of avrBs3 gene family from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* has a dual function. *Prog Nat Sci* 14:774–780. <https://doi.org/10.1080/10020070412331344311>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Long J, Song C, Yan F, et al (2018) Non-TAL effectors from *xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* suppress peptidoglycan-triggered MAPK activation in rice. *Front Plant Sci* 871:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01857>
- Lu X, Kracher B, Saur IML, et al (2016) Allelic barley MLA immune receptors recognize sequence-unrelated avirulence effectors of the powdery mildew pathogen. *Proc Natl Acad Sci* 113:E6486–E6495. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1612947113>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Luu DD, Joe A, Chen Y, et al (2019) Biosynthesis and secretion of the microbial sulfated peptide RaxX and binding to the rice XA21 immune receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116:8525–8534. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818275116>

- M'Barek S Ben, Karisto P, Fakhfakh M, et al (2019) Improved control of *Septoria tritici* blotch in durum wheat using cultivar mixtures. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/664078>
- Mago R, Zhang P, Vautrin S, et al (2015) The wheat Sr50 gene reveals rich diversity at a cereal disease resistance locus. *Nat Plants* 2015 112 1:1–3. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.186>
- McDonald BA, Linde C (2002a) Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:349–379
- McDonald BA, Linde C (2002b) The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica* 2002 1242 124:163–180. <https://doi.org/10.1023/A:1015678432355>
- Mesarich CH, Bowen JK, Hamiaux C, Templeton MD (2015) Repeat-containing protein effectors of plant-associated organisms. *Front Plant Sci* 0:872. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00872>
- Minsavage G V. (1990) Gene-For-Gene Relationships Specifying Disease Resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* - Pepper Interactions. *Mol Plant-Microbe Interact* 3:41. <https://doi.org/10.1094/MPMI-3-041>
- Mondragon-Palomino M, Gaut BS (2005) Gene Conversion and the Evolution of Three Leucine-Rich Repeat Gene Families in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Biol Evol* 22:2444–2456. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSI241>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Mundt CC (2002) Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:381–410
- Osdaghi E, Jones JB, Sharma A, et al (2021) A centenary for bacterial spot of tomato and pepper. *Mol Plant Pathol* 22:1500–1519. <https://doi.org/10.1111/mpp.13125>
- Pérez-Quintero AL, Rodríguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Perez-Quintero AL, Szurek B (2019) A Decade Decoded: Spies and Hackers in the History of TAL Effectors Research. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100026> 57:459–481. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082718-100026>
- Poland JA, Balint-Kurti PJ, Wisser RJ, et al (2009) Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci.* 14:21–29
- Ponciano G, Webb K, Bai J, et al (2004) Molecular characterization of the *avrXa7* locus from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* field isolates. *Physiol Mol Plant Pathol* 64:145–153. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.08.001>
- Popov G, Fraiture M, Brunner F, Sessa G (2016) Multiple *Xanthomonas euvesicatoria* Type III Effectors Inhibit *flg22*-Triggered Immunity. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R> 29:651–660. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R>

- Porter BW, Chittoor JM, Yano M, et al (2003) Development and mapping of markers linked to the rice bacterial blight resistance gene Xa7. John Wiley & Sons, Ltd
- Potnis N, Minsavage G, Smith JK, et al (2012) Avirulence Proteins AvrBs7 from *Xanthomonas gardneri* and AvrBs1.1 from *Xanthomonas euvesicatoria* Contribute to a Novel Gene-for-Gene Interaction in Pepper. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0205> 25:307–320. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0205>
- Pruitt RN, Schwessinger B, Joe A, et al (2015) The rice immune receptor XA21 recognizes a tyrosine-sulfated protein from a Gram-negative bacterium. *Sci Adv* 1:e1500245. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500245>
- Raborn RT, Brendel VP (2019) Using RAMPAGE to Identify and Annotate Promoters in Insect Genomes. *Methods Mol Biol* 1858:99–116. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8775-7_9
- Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020) Genome assembly and characterization of a complex zfBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zfBED-NLR gene-containing Dis Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678. <https://doi.org/10.1101/675678>
- Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516>
- Ri CH, Phe S, Fere Nc E RM, et al (2018) Recent advances in the understanding of *Xanthomonas citri* ssp. *citri* pathogenesis and citrus canker disease management. *Mol Plant Pathol* 19:1302–1318. <https://doi.org/10.1111/MPP.12638>
- Roeschlin RA, Uviedo F, García L, 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. <https://doi.org/10.1111/mpp.12844>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Ronald PC, Staskawicz BJ (1988) The avirulence gene *avrBs1* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* encodes a 50-kD protein. *Mol Plant Microbe Interact* 1:191–198. <https://doi.org/10.1094/MPMI-1-191>
- Roux F, Voisin D, Badet T, et al (2014) Resistance to phytopathogens e tutti quanti: Placing plant quantitative disease resistance on the map. *Mol Plant Pathol* 15:427–432. <https://doi.org/10.1111/MPP.12138>
- Ruh M, Briand M, Bonneau S, et al (2017) *Xanthomonas* adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. *BMC Genomics* 18:670. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4087-6>

- Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, et al (2003) Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theor Appl Genet* 106:794–803. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1088-9>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 91 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol* 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>
- Schorneck S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>
- Schorneck S, Minsavage G V., Stall RE, et al (2008) Characterization of AvrHah1, a novel AvrBs3-like effector from *Xanthomonas gardneri* with virulence and avirulence activity. *New Phytol* 179:546–556. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2008.02487.X>
- Serra H, Choi K, Zhao X, et al (2018) Interhomolog polymorphism shapes meiotic crossover within RAC1 and RPP13 disease resistance genes. *bioRxiv* 290478. <https://doi.org/10.1101/290478>
- Shivaprasad P V., Chen HM, Patel K, et al (2012) A microRNA superfamily regulates nucleotide binding site-leucine-rich repeats and other mRNAs. *Plant Cell* 24:859–874. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.095380>
- Song W-YY, Wang G-LL, Chen L-LL, et al (1995) A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, Xa21. *Science* (80-) 270:1804. <https://doi.org/10.1126/science.270.5243.1804>
- St.clair DA (2010) Quantitative disease resistance and quantitative resistance loci in breeding. *Annu Rev Phytopathol* 48:247–268. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081904>
- Stall RE, Jones JB, Minsavage G V. (2009) Durability of Resistance in Tomato and Pepper to *Xanthomonas* Causing Bacterial Spot. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081752> 47:265–284. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-080508-081752>
- Stam R, Scheikl D, Tellier A (2016) Pooled Enrichment Sequencing Identifies Diversity and Evolutionary Pressures at NLR Resistance Genes within a Wild Tomato Population. *Genome Biol Evol* 8:1501–1515. <https://doi.org/10.1093/GBE/EVW094>
- Stam R, Silva-Arias GA, Tellier A (2019) Subsets of NLR genes show differential signatures of adaptation during colonization of new habitats. *New Phytol* 224:367–379. <https://doi.org/10.1111/NPH.16017>
- Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

- Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>
- Sugio A, Yang B, Zhu T, White FF (2007) Two type III effector genes of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* control the induction of the host genes OsTFIIA γ 1 and OsTFX1 during bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:10720–10725. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701742104>
- Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) Xa26, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>
- Sun X, Yang Z, Wang S, Zhang Q (2003) Identification of a 47-kb DNA fragment containing Xa4, a locus for bacterial blight resistance in rice. *Theor Appl Genet* 106:683–687. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1117-8>
- Tai TH, Dahlbeck D, Clark ET, et al (1999) Expression of the Bs2 pepper gene confers resistance to bacterial spot disease in tomato. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:14153–14158. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.24.14153>
- Tian D, Wang J, Zeng 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>
- Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice. *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>
- Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger 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. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>
- Vallejos CE, Jones V, Stall RE, et al (2010) Characterization of two recessive genes controlling resistance to all races of bacterial spot in peppers. *Theor Appl Genet* 121:37–46. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1289-6>
- Van de Weyer AL, Monteiro F, Furzer OJ, et al (2019) A Species-Wide Inventory of NLR Genes and Alleles in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 178:1260-1272.e14. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.07.038>
- Vaughan DA, Lu BR, Tomooka N (2008) The evolving story of rice evolution. *Plant Sci* 174:394–408. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.01.016>
- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Triplett LR, Hummel AW, et al (2012) Transcription activator-like (TAL) effectors targeting OsSWEET genes enhance virulence on diverse rice (*Oryza sativa*) varieties when

expressed individually in a TAL effector-deficient strain of *Xanthomonas oryzae*. *New Phytol* 196:1197–1207. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2012.04367.X>

- Wang C, Chen S, Feng A, et al (2021) Xa7, a Small Orphan Gene Harboring Promoter Trap for AvrXa7, Leads to the Durable Resistance to *Xanthomonas oryzae* P.v. *oryzae*. *Rice* 14:48. <https://doi.org/10.1186/s12284-021-00490-z>
- Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor r protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>
- Wang L, Rinaldi FC, Singh P, et al (2017) TAL Effectors Drive Transcription Bidirectionally in Plants. *Mol Plant* 10:285–296. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.12.002>
- Wichmann G, Bergelson J (2004) Effector Genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* Promote Transmission and Enhance Other Fitness Traits in the Field. *Genetics* 166:693–706. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/166.2.693>
- Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x>
- Yang B, Sugio A, White FF (2005) Avoidance of host recognition by alterations in the repetitive and C-terminal regions of AvrXa7, a type III effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant-Microbe Interact* 18:142–149. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0142>
- Yang B, Sugio A, White FF (2006) Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10503–10508. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604088103>
- Yang B, Zhu W, Johnson LB, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.170286897>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Yu Y, Streubel J, Balzergue S, 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* 24:1102–1113. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254>
- Zhai J, Jeong DH, de Paoli E, et al (2011) MicroRNAs as master regulators of the plant NB-LRR defense gene family via the production of phased, trans-acting siRNAs. *Genes Dev* 25:2540–2553. <https://doi.org/10.1101/gad.177527.111>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>

- Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>
- Zhang Y, Wang J, Pan J, et al (2009) Identification and molecular mapping of the rice bacterial blight resistance gene allelic to Xa7 from an elite restorer line Zhenhui 084. *Eur J Plant Pathol* 125:235–244. <https://doi.org/10.1007/S10658-009-9478-3/TABLES/4>
- Zhang Y, Xia R, Kuang H, Meyers BC (2016) The Diversification of Plant NBS-LRR Defense Genes Directs the Evolution of MicroRNAs That Target Them. *Mol Biol Evol* 33:2692–2705. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSW154>
- Zhou J, Peng Z, Long J, et al (2015) Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. *Plant J* 82:632–643. <https://doi.org/10.1111/tpj.12838>
- Zhou J, Yang B (2015) Host target genes of the *Xanthomonas oryzae* pv . *oryzae* type III effectors for bacterial blight in rice
- Zhu S, Li Y, Vossen JH, et al (2012) Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Res* 21:89–99. <https://doi.org/10.1007/s11248-011-9510-1>
- Zou HS, Zhao WX, Zhang XF, et al (2010) Identification of an avirulence gene, *avrxa5*, from the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Sci China Life Sci* 2010 53:1440–1449. <https://doi.org/10.1007/S11427-010-4109-Y>

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Biologie des Interactions

École doctorale GAIA

Unité de recherche PHIM, IRD

Caractérisation de nouvelles sources de résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

Présentée par Marlène LACHAUX
Le 09 Mars 2022

Sous la direction de Boris SZUREK
et Mathilde HUTIN

Devant le jury composé de

Mme Alia DELLAGI, Professeure, AgroParisTech Versailles

M. Roland KÖLLIKER, Directeur de recherche, Agroscope Zürich

Mme Claire Neema, Professeure, L'Institut Agro Montpellier

M. Nicolas CHEN, Chargé de recherche, Agrocampus Ouest Angers

Mme Mathilde HUTIN, Chargée de recherche, IRD Montpellier

M. Boris SZUREK, Directeur de recherche, IRD Montpellier

Mme Laurence ALBAR, Chargée de recherche, IRD Montpellier

Rapporteur

Rapporteur

Examinatrice

Examineur

Co-encadrante

Directeur de thèse

Invitée



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

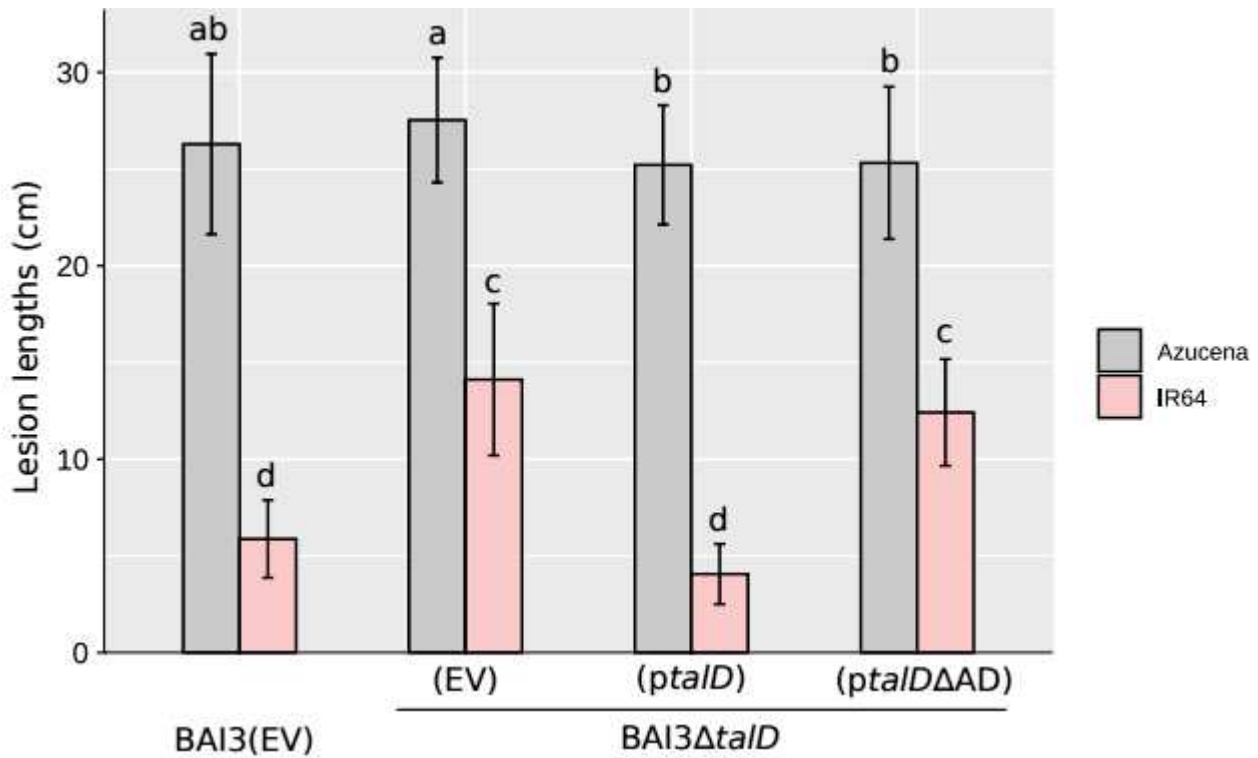


Figure 1. Phenotypic characterization of *TalD* avirulence factor on the IR64 rice variety.

Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and BAI3Δ*talD* carrying an empty vector (EV), a plasmid with *talD* (*ptalD*) or a plasmid with *talD*ΔAD (*ptalD*ΔAD). To assess significance, the parametric test ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm SD. Experiment was repeated three times with similar results.

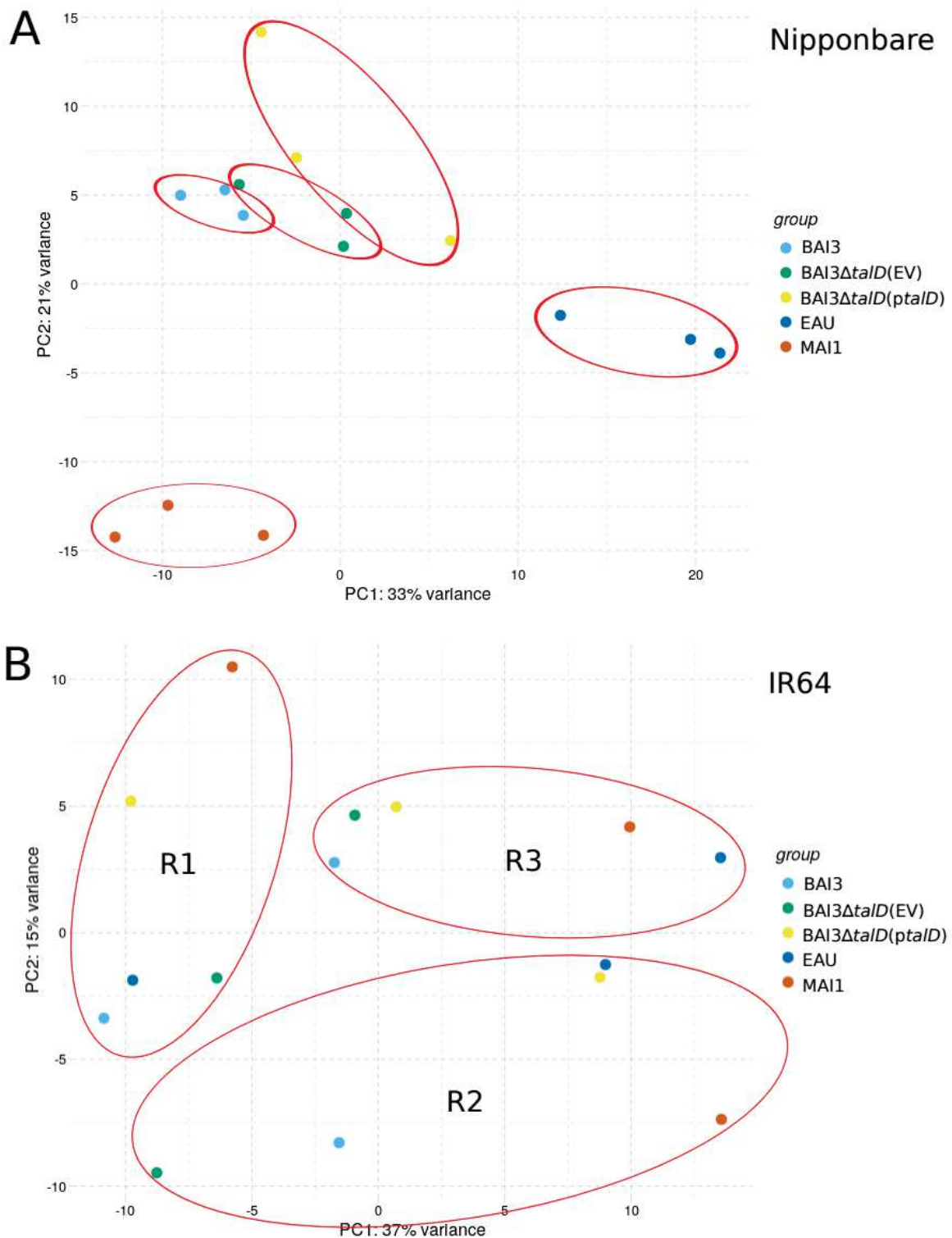


Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries.

Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries was evaluated. Dots represent the different treatments applied to the rice varieties Nipponbare (A) and IR64 (B). Red circles surround samples from the same treatment (A) or biological replicate (B).

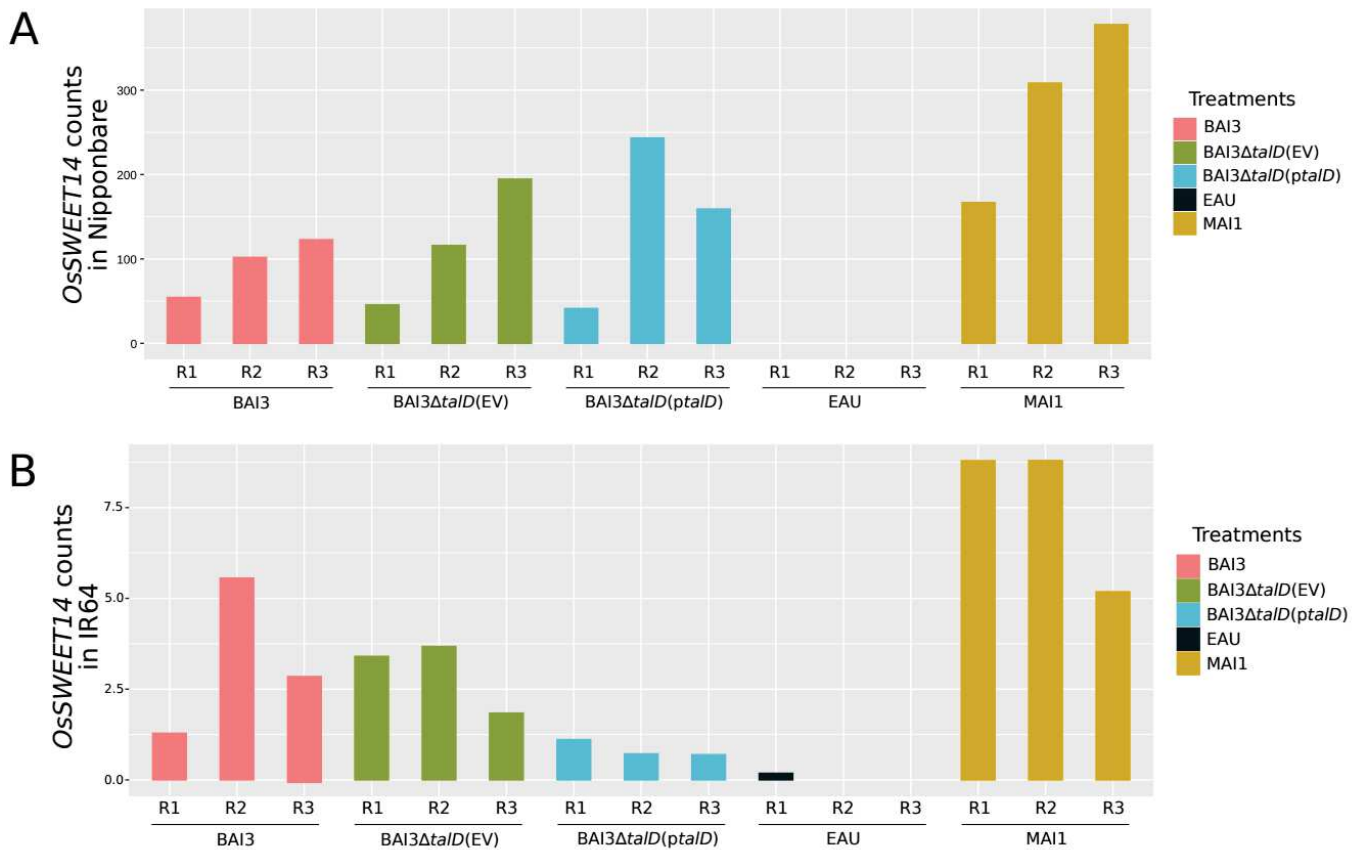


Figure 3. Differential gene expression of *OsSWEET14* in Nipponbare and IR64 rice varieties.

Leaves of 3-week-old Nipponbare (A) and IR64 (B) rice varieties were infiltrated with wild-type *Xoo* strains MAI1 and BAI3 the BAI3 Δ talD mutant complemented with either an empty vector (EV) or talD (*ptalD*), and with water as mock control. Gene expression level of the virulence target genes *OsSWEET14* was determined using HTseq-count (v0.6.0) (Anders et al. 2015), and normalized using reads per million mapped reads values.

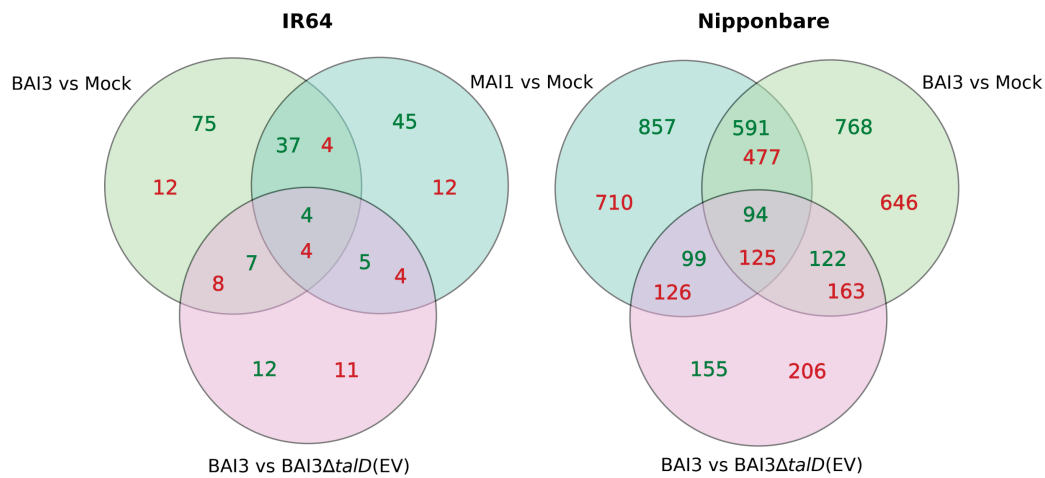


Figure 4. Venn diagram of differential expressed genes in IR64 and Nipponbare, upon the inoculation of MAI1, BAI3 and the BAI3ΔtalD(EV) mutant strains.

IR64 and Nipponbare rice varieties were inoculated with the African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and the BAI3ΔtalD(EV) mutant, and with water as mock control. The number of up-regulated (green) and down-regulated (red) genes between the different comparisons are indicated within circles.

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	Gene expression level ^c (Count/Million)				Ortholog DE ^d	QTL ^e	EBE prediction for TalD ^f					
			BAI3	BAI3 Δ talD(EV)	Mock	MAI1			EBE predicted in IR64	Rank	Score	EBE predicted in Nipponbare	Rank	Score
<i>OsIR64_03g045980</i>	<i>LOC_Os03g61760</i>	Squamosa promoter binding protein-like 6	414.7915	101.4343	101.9531	258.4836	TRUE	FALSE	TRUE	2	13.747	TRUE	3	13.581
<i>OsIR64_07g032900</i>	<i>LOC_Os07g48760</i>	CBL-interacting protein kinase 3	7.9138	0.2632	0.4479	5.0145	TRUE	FALSE	TRUE	306	10.501	TRUE	421	10.364
<i>OsIR64_09g020440</i>	<i>LOC_Os09g34214</i>	Glycosyltransferase	12.5095	6.1651	3.4498	7.1850	TRUE	FALSE	FALSE	NA	NA	FALSE	NA	NA
<i>OsIR64_12g016550</i>	<i>LOC_Os12g31000</i>	PUM-HD domain-containing protein	0.3232	0.1539	0.0794	1.2593	TRUE	FALSE	FALSE	NA	NA	FALSE	NA	NA

Table 1. Common differentially expressed genes induced by BAI3 and MAI1.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation.

^c Gene expression levels were normalized using fragments per kb of exons per million mapped reads values.

^d Ortholog identified and differentially expressed (DE) in Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

^f Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

	TAL_ID	SEQ_ID ^a	Annotation	Chromosome	Strand	SCORE ^b	EBE strand ^c	TALBS_ distance_from _end ^d	TALBS_start ^e	TALBS_end ^e	TALBS_ sequence ^e	RANK ^f
QTL <i>qABB-11</i>	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>1130</i>	Expressed protein	Chr 11	-	10.156	+	-194	807	830	TACCCAGCT ATATCCCAA CCCCA	465
	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>1180</i>	Conserved hypothetical protein	Chr 11	-	9.925	-	-147	831	854	AACAGCTCT CTATCCCATC CTCC	601
	>X00a BAI3 TalD	<i>OsIR64_11g03</i> <i>3100</i>	Expressed protein	Chr 11	+	9.801	+	-99	902	925	TACGCGTGT CAATTCCAT CAgca	670

Table 2. Genes in the QTL interval of *qABB-11* with a binding site predicted for TalD.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Talvez program was used to score the interaction between TalD and the EBE sequence ; the higher the score it is the greater is the interaction.

^c Talvez program was used to evaluate the position of EBE_{TalD} on the genome strand of IR64.

^d TalD binding site (TALBS) position from the end of the 1000bp selected from the ATG sequence.

^e TalD binding site (TALBS) start/end position, and the genome sequence bound.

^f Rank position among the top 1000 potential TalD targets.

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	Gene expression level ^c (Count/Million)				Ortholog DE ^d	QTL ^e	EBE predicted in IR64 ^f
			BAI3	BAI3 Δ talD(EV)	Mock	MAI1			
<i>OsIR64_03g006810</i>	<i>LOC_Os03g08900</i>	Detoxification protein	212.9686	176.6330	87.7731	88.0699	TRUE	<i>qABB-3b</i>	FALSE
<i>OsIR64_04g014960</i>	<i>LOC_Os04g33150</i>	Desiccation-related protein PCC13-62	8.0437	13.6094	3.0215	7.9804	TRUE	<i>qABB-4</i>	FALSE
<i>OsIR64_07g006980</i>	<i>LOC_Os07g08800</i>	Expressed protein	1.9302	3.1067	1.7927	5.5221	FALSE	<i>qABB-7</i>	FALSE

Table 3. Differentially expressed genes located in the QTLs in IR64 revealed by MAI1 and BAI3.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation.

^c Gene expression levels were normalized using reads per million mapped reads values.

^d Ortholog identified and differentially expressed (DE) in Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

^f Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

Name IR64 ^a	Annotation	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3
<i>OsIR64_11g031440</i>	Protein kinase domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g031510</i>	Expressed protein	x		
<i>OsIR64_11g031560</i>	Conserved hypothetical protein	x		
<i>OsIR64_11g032020</i>	Jacalin-type lectin domain-containing protein			x
<i>OsIR64_11g032080</i>	Os11g0681600 protein	x		
<i>OsIR64_11g032490</i>	Protein kinase domain-containing protein	x		
<i>OsIR64_11g032710</i>	Receptor kinase TRKc	x		
<i>OsIR64_11g032820</i>	Myb-related protein MYBAS1	x		
<i>OsIR64_11g032860</i>	Glycosyl-hydrolase-18 domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g032900</i>	putative xylanase inhibitor protein 1	x		x
<i>OsIR64_11g032970</i>	RING-type domain-containing protein		x	
<i>OsIR64_11g033060</i>	non-coding RNA	x	x	
<i>OsIR64_11g033220</i>	GRAS-domain containing protein		x	x

Table 4. List of candidate genes differentially expressed between BAI3 and mock conditions in IR64, located in *qABB-11*.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>). NA means "non-annotated".

Name IR64 ^a	Name Nipponbare ^b	Annotation	DE gene in IR64 ^c	EBE prediction for TalD ^d	QTL ^e
<i>OsIR64_03g045980</i>	<i>LOC_Os03g61760</i>	Squamosa promoter binding protein-like 6	x	x	
<i>OsIR64_07g032900</i>	<i>LOC_Os07g48760</i>	CBL-interacting protein kinase 3	x	x	
<i>OsIR64_09g020440</i>	<i>LOC_Os09g34214</i>	Glycosyltransferase	x		
<i>OsIR64_12g016550</i>	<i>LOC_Os12g31000</i>	PUM-HD domain-containing protein	x		
<i>OsIR64_03g006810</i>	<i>LOC_Os03g08900</i>	Detoxification protein	x		x
<i>OsIR64_04g014960</i>	<i>LOC_Os04g33150</i>	Desiccation-related protein PCC13-62	x		x
<i>OsIR64_07g006980</i>	<i>LOC_Os07g08800</i>	Expressed protein	x		x
<i>OsIR64_11g033060</i>	NA	non-coding RNA	x		x
<i>OsIR64_11g033220</i>	<i>LOC_Os11g47900</i>	GRAS-domain containing protein	x		x
<i>OsIR64_11g032900</i>	<i>LOC_Os11g47560</i>	putative xylanase inhibitor protein 1	x		x
<i>OsIR64_11g031130</i>	NA	Expressed protein		x	x
<i>OsIR64_11g031180</i>	NA	Conserved hypothetical protein		x	x
<i>OsIR64_11g033100</i>	NA	Expressed protein		x	x

Table 5. List of candidate genes involved in MAI1 and/or BAI3 resistance in IR64.

^a Gene ID in IR64 genome (version Rice Genome Hub platform <http://stage.rice-genome-hub.southgreen.fr/>).

^b Ortholog gene in Nipponbare, according to the MSU7 annotation. NA means "non-annotated".

^c Gene differentially expressed (DE) in IR64.

^d Talvez program was used to evaluate the presence/absence of EBE_{TalD} in the genome of IR64 and Nipponbare.

^e Gene located in a QTL revealed by BAI3 or MAI1.

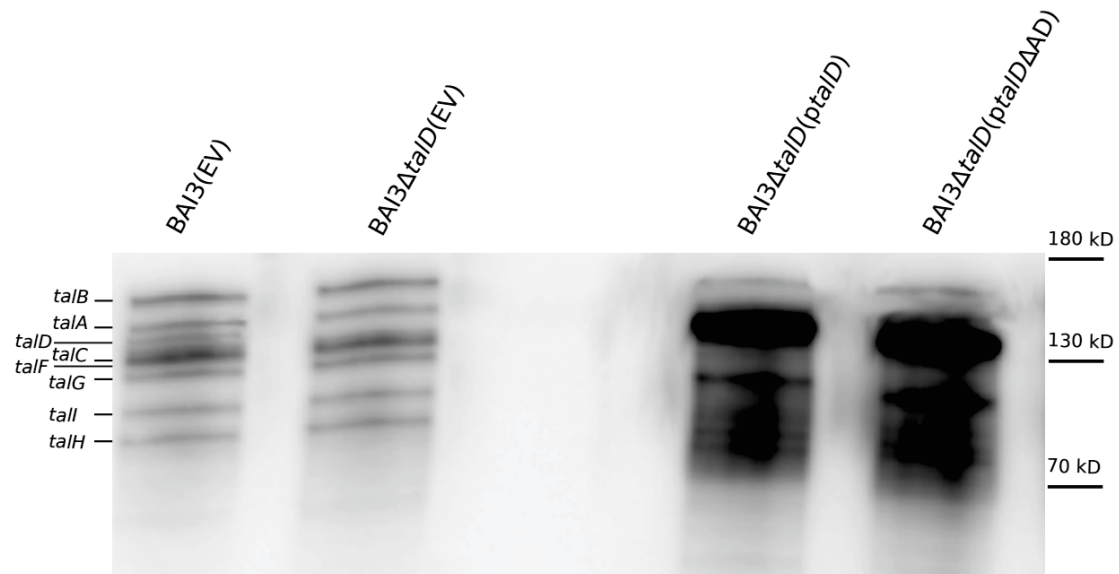


Figure S1. Western blot of total protein extracts of *Xoo* using an anti-TALE polyclonal antibody.

Western blot assay of the *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector (pSKX1_EV), the BAI3Δ*talD* mutant carrying an empty vector (pSKX1_EV), and the BAI3Δ*talD* mutant complemented with *talD* or *talD*ΔAD. The wild type strain BAI3 contains *tal* genes indicated on the left. Molecular weight is indicated on the right.

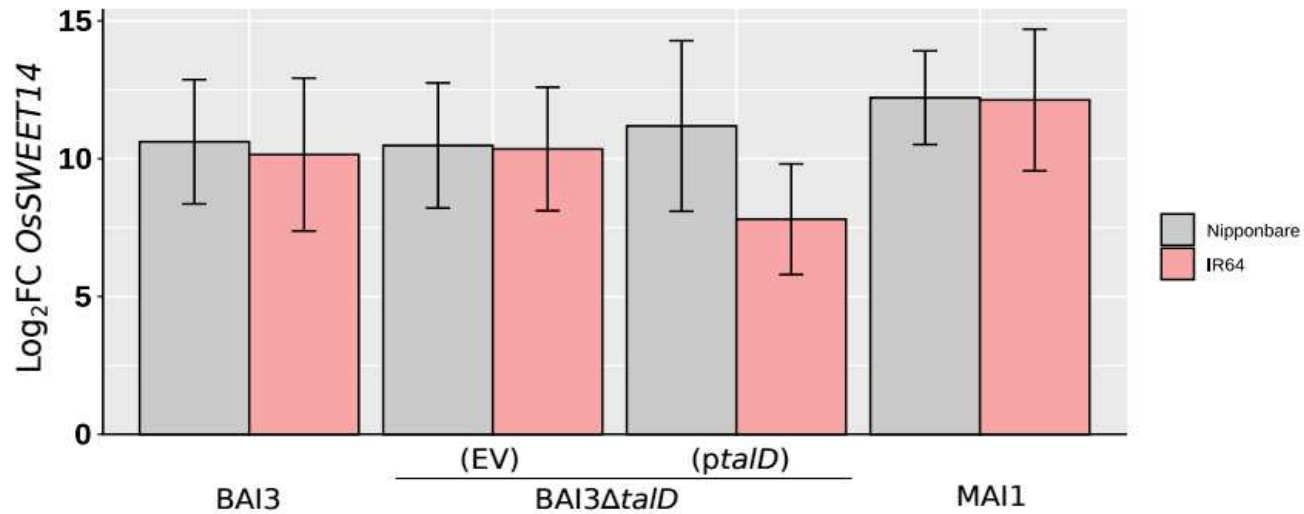


Figure S2. Induction of the susceptibility (*S*) gene *OsSWEET14* in the RNA samples.

Transcript abundance of the virulence target genes *OsSWEET14* was determined by quantitative RT-PCR 24 hours after leaf-infiltration of 3-week-old Nipponbare and IR64 rice varieties with wild-type *Xoo* strains MAI1 and BAI3 the BAI3Δ*talD* mutant complemented with either an empty vector (EV) or *talD* (*ptaID*), and with water as mock control. The fold change was calculated in comparison to leaves treated with water. Actin was used as a reference gene to normalize cDNA amounts. Error bars represent the standard deviation of the mean (SD). Statistical analyses were performed under R software and no significant differences were shown.

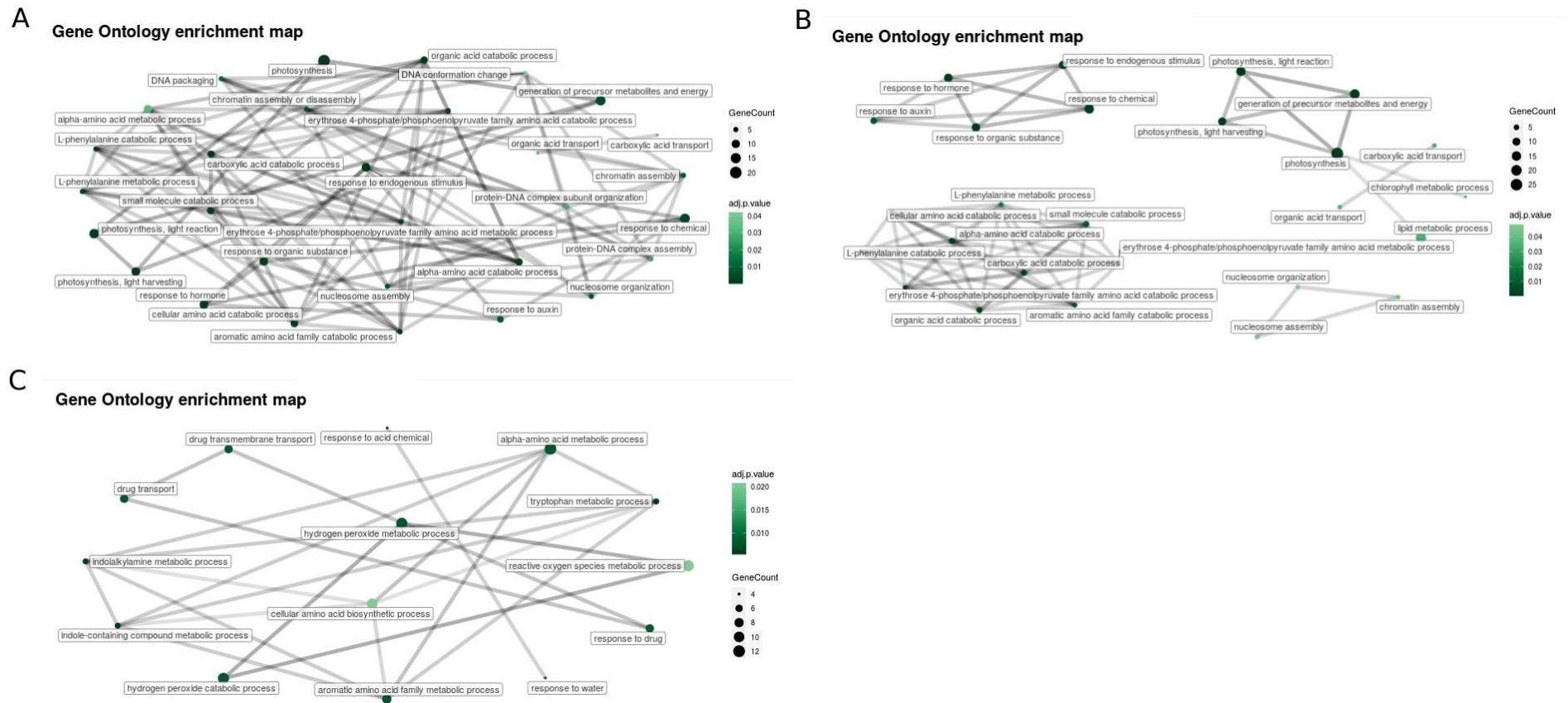


Figure S3. Up- and down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in Nipponbare.

Gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock control, in Nipponbare, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with an adjusted p.value ≤ 0.05 (Droc et al. 2019). Gene ontology of down-regulated genes by MAI1 (A), BAI3 (B) and of up-regulated genes by BAI3 (C).

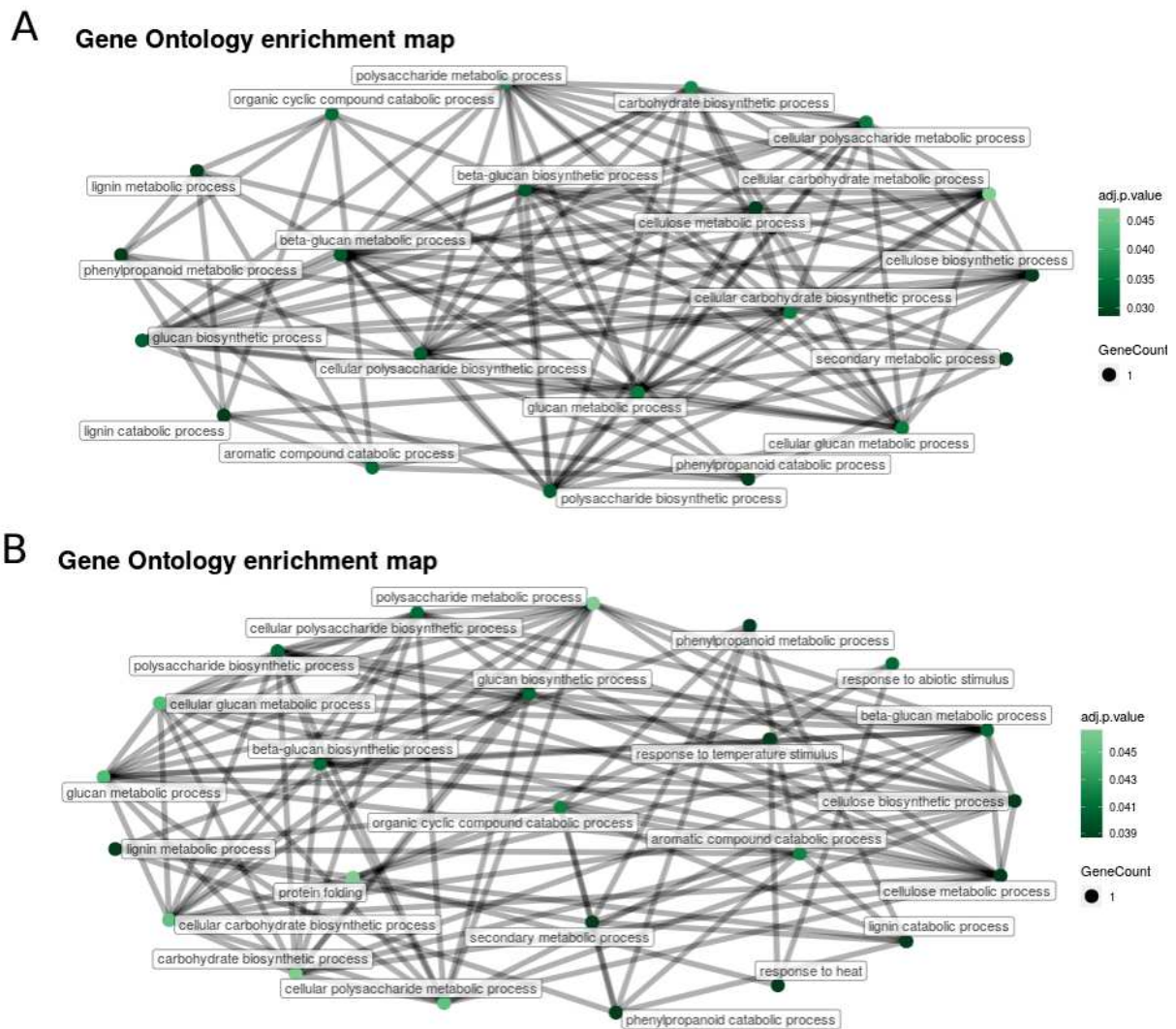


Figure S4. Down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in IR64.

Gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock control, in IR64, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with an adjusted p.value ≤ 0.05 (Droc et al. 2019). LOC_ID from Nipponbare orthologs were used for GO enrichment of IR64 differentially expressed genes. Gene ontology of down-regulated genes by MAI1 (A) and BAI3 (B).

```

OsIR64_03p045980_prot    MEAARVGAQSRHLYGGGLGEPMDRRDKRLLFGWDLNDWRWDSDFVATPVPAEASGLAL 60
LOC_0s03g61760.1_prot    MEAARVGAQSRHLYGGGLGEPMDRRDKRLLFGWDLNDWRWDSDFVATPVPAEASGLAL 60
*****

OsIR64_03p045980_prot    NSSPSSSEEAGAASVRNVNARGSDKRKRKRVVVIDDDVEDDELVENGGGSLSLRIGGDAV 120
LOC_0s03g61760.1_prot    NSSPSSSEEAGAASVRNVNARGSDKRKRKRVVVIDDDVEDDELVENGGGSLSLRIGGDAV 120
*****

OsIR64_03p045980_prot    AHGAGVGGGADEEDRNGKKIRVQGGSPSPGACQVEGCTADLTGVRDYHRRHKVCEMHAKA 180
LOC_0s03g61760.1_prot    AHGAGVGGGADEEDRNGKKIRVQGGSPSPGACQVEGCTADLTGVRDYHRRHKVCEMHAKA 180
*****

OsIR64_03p045980_prot    TTAVVGNTVQRFQCQCSRKSYIVKRRDYYSNDFGSYLLILKNNFRFHPLQEFDEGKRSC 240
LOC_0s03g61760.1_prot    TTAVVGNTVQRFQCQCS-----RFHPLQEFDEGKRSC 212
*****

OsIR64_03p045980_prot    RRRLAGHNRRRRKTRPEVAVGGSFTEDKISSYLLGLLGVCANLNADNAEHLRQGLIS 300
LOC_0s03g61760.1_prot    RRRLAGHNRRRRKTRPEVAVGGSFTEDKISSYLLGLLGVCANLNADNAEHLRQGLIS 272
*****

OsIR64_03p045980_prot    GLLRNLGAVAKSLDPKELCKLLEACQSMQDGSNAGTSETANALVNTAVAEAGPSNSKMP 360
LOC_0s03g61760.1_prot    GLLRNLGAVAKSLDPKELCKLLEACQSMQDGSNAGTSETANALVNTAVAEAGPSNSKMP 332
*****

OsIR64_03p045980_prot    FVNGDQCGLASSVVPVQSKSPTVATPDPPACKFKDFDLNDTYGGMEGFEDGYEGSPTPA 420
LOC_0s03g61760.1_prot    FVNGDQCGLASSVVPVQSKSPTVATPDPPACKFKDFDLNDTYGGMEGFEDGYEGSPTPA 392
*****

OsIR64_03p045980_prot    FKTTDSPNCPSWMHQDSTQSPQTSNGSDSQAQLSSSNGDAQWICTSNMLKCCRTDKI 480
LOC_0s03g61760.1_prot    FKTTDSPNCPSWMHQDSTQSPQTSNGSDSQAQLSSSNGDAQ-----CRTDKI 442
*****

OsIR64_03p045980_prot    VFKLFEKVPSDLPPVLRSQLGLWSSSPTDIESYIRPGCIILTVYLRLVESAWKELSDNM 540
LOC_0s03g61760.1_prot    VFKLFEKVPSDLPPVLRSQLGLWSSSPTDIESYIRPGCIILTVYLRLVESAWKELSDNM 502
*****

OsIR64_03p045980_prot    SSYLDKLLNSSTGNFWASGLVFMVRHQIAFMHNGQLMLDRPLANSAHHYCKILCVRPIA 600
LOC_0s03g61760.1_prot    SSYLDKLLNSSTGNFWASGLVFMVRHQIAFMHNGQLMLDRPLANSAHHYCKILCVRPIA 562
*****

OsIR64_03p045980_prot    APFSTKVNFRVEGLNLVSDSSRLICSFEGSCIFQEDTDNIVDDVEHDDIEYLNFCCLPLS 660
LOC_0s03g61760.1_prot    APFSTKVNFRVEGLNLVSDSSRLICSFEGSCIFQEDTDNIVDDVEHDDIEYLNFCCLPLS 622
*****

```

Figure S5. Clustal Omega protein alignment of OsSPL6 protein.

Amino-acid alignment of OsSPL6 protein between the genome sequences of IR64 and Nipponbare varieties was realized under Clustal Omega platform (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Dashe significates a missing amino-acid, "*" indicates it is the same amino-acid.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>			
MAI1	Malian strain race A3	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3	Burkinabe strain race A1	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3 Δ <i>talD</i> (EV)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	Lachaux et al., in prep
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i>)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	Lachaux et al., in prep
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i> Δ Δ AD)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> Δ Δ AD gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	This study
Plasmids			
pSKX1	Empty vector used for <i>tale</i> gene expression, in BAI3	Gentamicin	Streubel et al., 2013
<i>ptalD</i>	pSKX1 plasmid carrying <i>talD</i> used for the complementation of the BAI3 Δ <i>talD</i> mutant	Gentamicin	Lachaux et al., in prep
<i>ptalD</i> Δ Δ AD	pSKX1 plasmid carrying <i>talD</i> Δ Δ AD used for the transformation of the BAI3 Δ <i>talD</i> mutant	Gentamicin	Lachaux et al., in prep

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

Gène <i>avr</i>	Protéine <i>Avr</i>	Gène <i>R</i>	Caractéristique	Protéine <i>R</i>	Hôte	Pathogène	Référence
<i>pthXo1 / tal4 / tal9d</i>	Effecteur TAL	<i>Xa1</i> et ses allèles (<i>Xo1</i> , <i>Xa2</i> , <i>Xa14</i> , <i>Xa31</i> , <i>Xa45</i>)	NB-LRR reconnaît les TALE indépendamment de leur séquence en RVD	Protéine NB-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Yoshimura et al. 1998; Triplett et al. 2016; Zhang et al. 2020; Ji et al. 2020)
<i>avrxa5 / pthXo7</i>	Effecteur TAL	<i>xa5</i>	Allèle de perte de S	Facteur de transcription TFIIA γ	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Jian.get et al. 2006; Sugio et al. 2007; Zou et al. 2010)
<i>pthXo1</i>	Effecteur TAL	<i>xa13</i> (<i>OsSWEET11</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Chu et al. 2006; Yang et al. 2006)
<i>pthXo2</i>	Effecteur TAL	<i>xa25</i> (<i>OsSWEET13</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Liu et al. 2011; Zhou et al. 2015)
<i>avrXa7 / pthXo3 / talC / talF_{MAII}</i>	Effecteur TAL	<i>xa41</i> (<i>OsSWEET14</i>)	Allèle de perte de S	Transporteur de sucres	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Antony et al. 2010; Yu et al. 2011; Streubel et al. 2013; Hutin et al. 2015)
<i>avrXa7 / pthXo3</i>	Effecteur TAL	<i>Xa7</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire, putative	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Chen et al. 2021; Luo et al. 2021)
<i>avrXa10</i>	Effecteur TAL	<i>Xa10</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire localisée au niveau du RE	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Tian et al. 2014)
<i>avrXa23</i>	Effecteur TAL	<i>Xa23</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire, putative	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Wang et al. 2015a)
<i>avrXa27</i>	Effecteur TAL	<i>Xa27</i>	Gène exécuteur	Protéine sécrétée dans l'apoplaste	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Zhang et al. 2015)
<i>TalI</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Lachaux et al. in prep)
<i>TalD</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Lachaux et al. in prep)
<i>avrXa3</i>	Effecteur TAL	<i>Xa3/Xa26</i>		récepteur RLK-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Li et al. 2004; Sun et al. 2004; Xiang et al. 2006)
<i>RaxX</i>	Peptide sulfaté	<i>Xa21</i>		récepteur RLK-LRR	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Pruitt et al. 2015)
Inconnu	Indéterminée	<i>Xa4</i>		Kinase associée à la paroi cellulaire / famille de récepteur RLK	Riz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Hu et al. 2017)
<i>avrBs4C</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4C-R</i>	Gène exécuteur	Protéine transmembranaire localisée au niveau du RE	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Strauss et al. 2012)
<i>avrBs1</i>	Protéine de 50 kDa	<i>Bs1</i>	Résistance aux races 0, 2 et 5	Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Cook and Guevara 1984; Ronald and Staskawicz 1988) (Escolar et al. 2001)
<i>avrBs2</i>	Protéine avec un domaine glycérolphosphodiesterase (GDE) conservé	<i>Bs2</i>	Résistance aux races 0 à 3, 7 et 8	Protéine NB-LRR	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Minsavage 1990; Tai et al. 1999)
<i>avrBs3</i>	Effecteur TAL	<i>Bs3</i>	Gène exécuteur / Résistance aux races 0, 1, 4, 7 et 9	Protéine de la famille des " flavin-dépendant mono-oxygenase", sous-classe YUCCA, putative	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Bonas et al. 1989; Römer et al. 2007)
<i>avrHah1</i>	Effecteur TAL	<i>Bs3</i>	Gène exécuteur	Protéine de la famille	Poivron	<i>X. gardneri</i>	(Römer et al. 2007;

				des " flavin-dependant mono-oxygenase", sous-classe YUCCA, putative			Schornack et al. 2008)
Inconnu	Indéterminée	<i>bs5 / bs6</i>	Résistances récessives, combinées donne résistance complète aux races 0 à 10	Non déterminées	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Vallejos et al. 2010)
<i>avrBsT (xopJ2)</i>	Protéine de 39 kDa	<i>BsT</i>		Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Escolar et al. 2001)
<i>avrBs7</i>	Effecteur <u>Xop</u>	<i>Bs7</i>		Protéine avec un domaine tyrosine-phosphatase	Poivron	<i>X. gardneri</i>	(Potnis et al. 2012)
<i>avrBs1,1</i> (homologue <i>avrBs7</i>)	Effecteur Xop	Possiblement <i>Bs7</i>		Protéine avec un domaine tyrosine-phosphatase	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Potnis et al. 2012)
<i>avrRxv (xopJ4)</i>	Effecteur de la famille XopJ	Inconnu		Non déterminée	Poivron	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Osdaghi et al. 2021)
<i>avrXv4 (XopJ4)</i>	Effecteur de la famille XopJ	Inconnu		Non déterminée	Tomate	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>perforans</i>	(Osdaghi et al. 2021)
<i>avrBs4</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	(Bonas et al. 1993; Schornack et al. 2004)
<i>hax3</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. campestris</i> pv. <i>armoraciae</i>	(Schornack et al. 2004; Kay et al. 2005)
<i>hax4</i>	Effecteur TAL	<i>Bs4</i>		Protéine TIR-NB-LRR non-nucléaire	Tomate	<i>X. campestris</i> pv. <i>armoraciae</i>	(Schornack et al. 2004; Kay et al. 2005)
<i>pthA4^{AT}</i>	Effecteur TAL	Inconnu		Non déterminée	Agrumes	<i>X. citri</i> pv. <i>citri</i>	(Roeschlin et al. 2019)
<i>avrGf1/avrGf2</i>	Effecteur de la famille XopAG	Inconnu		Non déterminée	Agrumes	<i>X. citri</i> pv. <i>citri</i>	(Ri et al. 2018)
<i>avrXg1</i>	Effecteur TAL	Inconnu	Donne résistance à la race 3	Non déterminée	Soja	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>	(Athinuwat et al. 2009)

Tableau 5. Gènes d'avirulence et gènes de résistance au sein du genre *Xanthomonas* chez différents pathosystèmes.

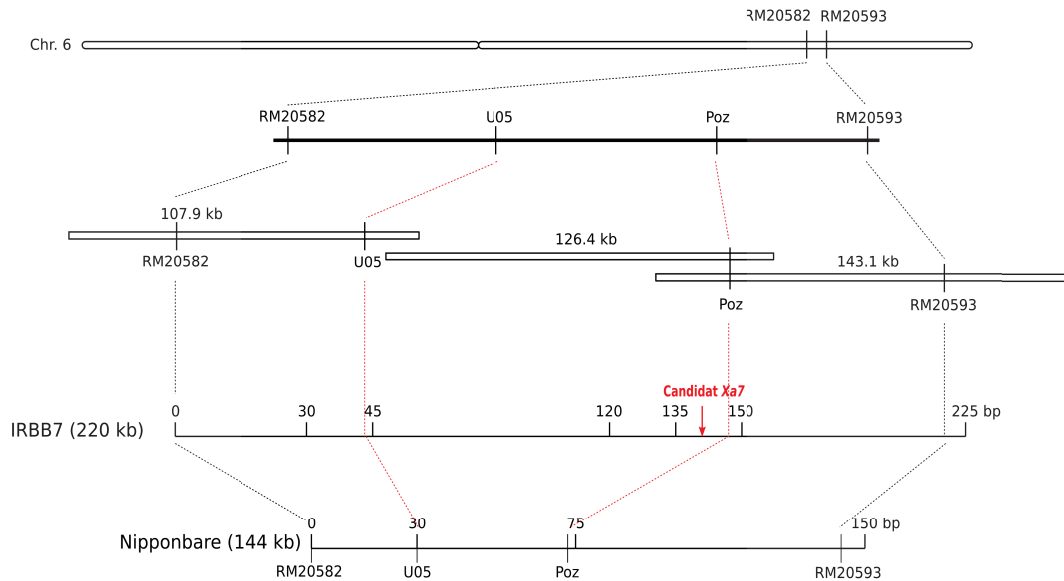


Figure 22. Cartographie fine du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Wang et al. 2021).

Les lignes verticales représentent les sites des principaux marqueurs de la carte physique. Les contigs BAC IRBB7 sont représentés par des rectangles non remplis qui se chevauchent. La région entre les lignes pointillées rouges représente la région *Xa7* cartographiée, qui est flanquée par les marqueurs U05 et Poz.

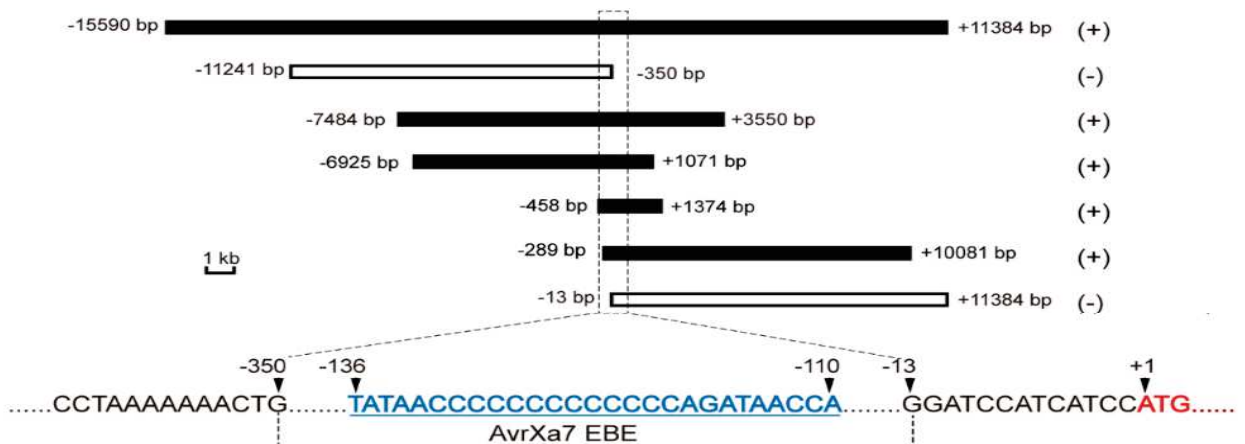


Figure 23. Complémentation fonctionnelle du gène candidat *Xa7*. D'après (Wang et al. 2021).

Les sous-clones TAC utilisés pour la transformation du riz sont indiqués par des rectangles vides et remplis. Les rectangles vides représentent les sous-clones générant des lignées transgéniques sensibles, tandis que les rectangles pleins représentent les sous-clones générant des lignées transgéniques résistantes. Les informations positionnelles des fragments insérés sont indiquées à côté des rectangles. Les chiffres négatifs indiquent une distance en amont du site d'initiation du codon ATG pour le gène candidat, tandis que les chiffres positifs indiquent une distance en aval de celui-ci. Les sous-clones qui ont produit un riz transgénique résistant à la BLB sont marqués par (+), sinon par (-).

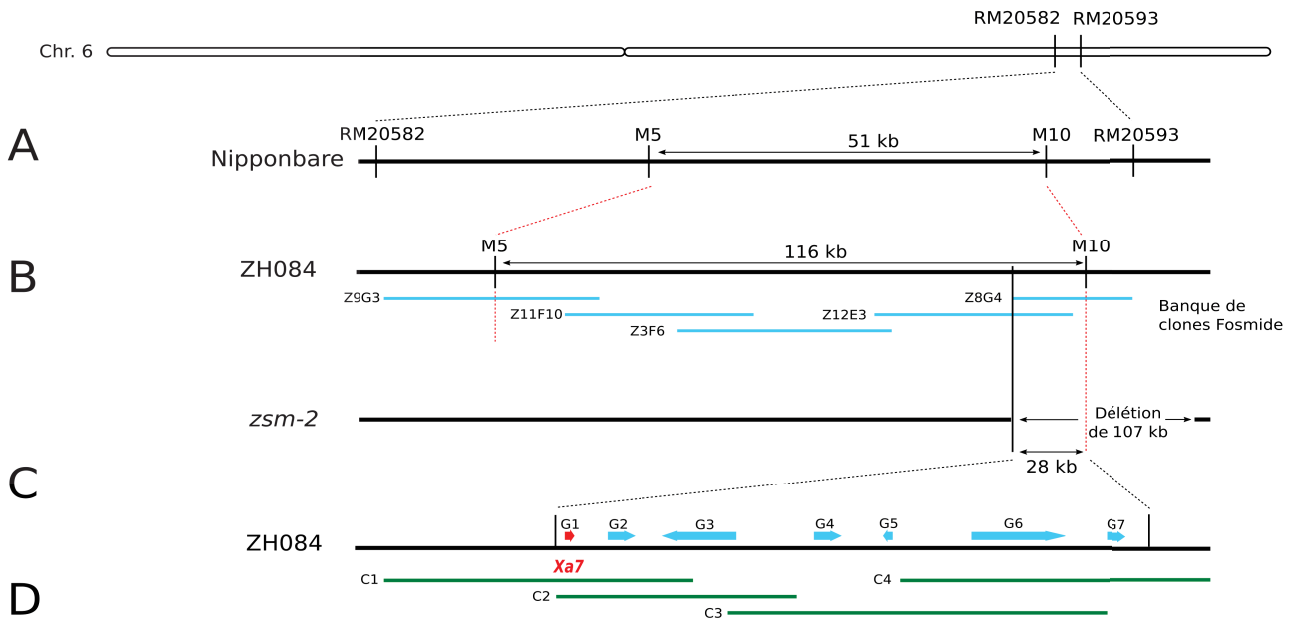


Figure 24. Clonage positionnel du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Chen et al. 2021).

(A) Carte physique de la région contenant *Xa7* sur le chromosome 6 du riz basée sur le génome de référence de Nipponbare. (B) Carte physique de la région contenant *Xa7* basée sur la variété de riz Zhen-hui 084 (ZH084). La carte a été construite en utilisant des contigues de clones isolés à partir de la bibliothèque génomique de la variété correspondante. (C) La région de chevauchement de 28 kb entre la région de cartographie de *Xa7* de 116 kb et la délétion de 107 kb dans un mutant sensible à la BLB, *zsm-2*, dont le fond génétique est celui de la variété ZH084. Les gènes prédits (G1 à G7) dans la région de chevauchement de 28 kb. (D) Les positions des quatre fragments (C1 à C4) utilisés pour la transformation de complémentation fonctionnelle dans Zhonghua 11 (ZH11), variété sensible à la BLB.

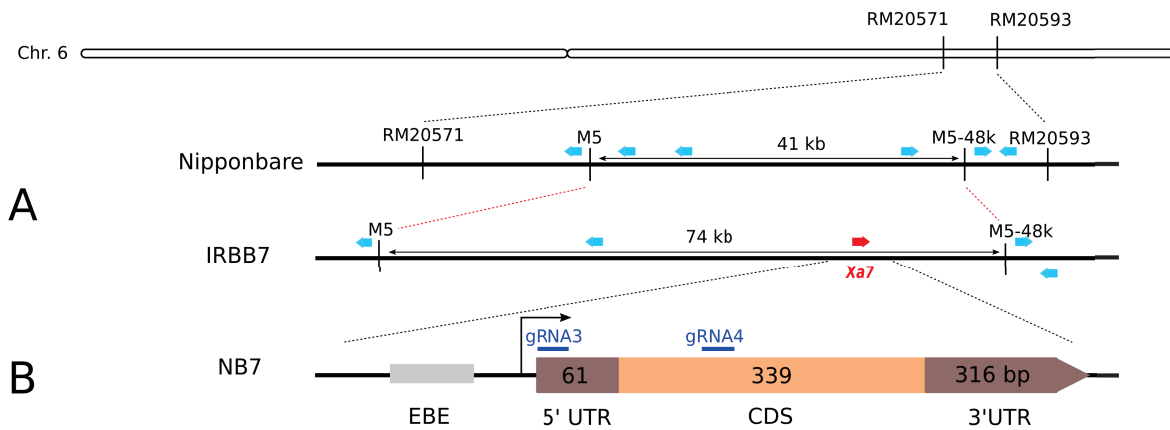


Figure 25. Cartographie fine et identification du gène de résistance *Xa7*, schéma inspiré de (Luo et al. 2021). (A) Carte physique du locus *Xa7* et des marqueurs associés sur le chromosome 6. Régions génomiques délimitées par deux marqueurs (M5 et M5-48k) dans Nipponbare et IRBB7. Les gènes annotés dans Nipponbare et IRBB7 sont indiqués par des flèches bleues, et par une flèche rouge pour le gène candidat *Xa7*. (B) Représentation schématique de *Xa7*. La structure du gène est représentée par une boîte cible (EBE) pour Avr*Xa7*, un 5' UTR pour la région non traduite 5', 3' UTR pour la région non traduite 3', puis la séquence codante (CDS).

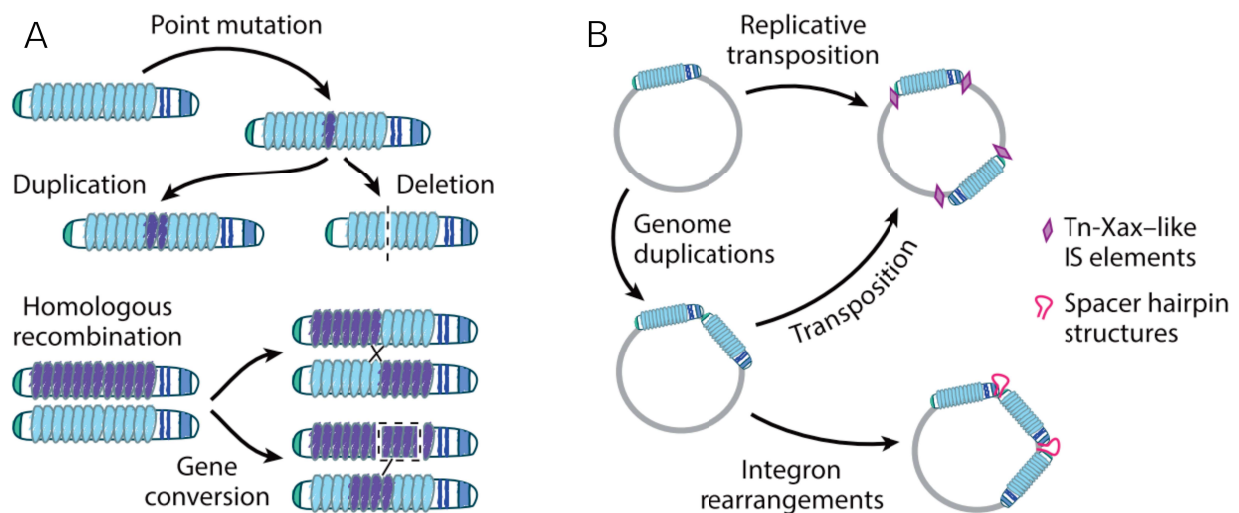


Figure 26. Mécanismes d'évolution des effecteurs TAL. D'après (Perez-Quintero and Szurek 2019) (A) Mécanismes décrits générant une variation de la séquence de répétition dans les TALE. (B) Représentation des mécanismes décrits générant des réarrangements génomiques des TALE. Séquence d'insertion (IS).

TAL group	Strain	Repeats and RVD sequence																	
TalG	MAI1	NN	NN	NN	NI	NN	NN	HD	NI	NG	HD	NI	NN	HD	NG	HD	HD	NG	
	CFBP1947	NN	NN	NN	NI	NN	NN	HD	NI	NG	HD	NI	NN	HD	NG	HD	HD	NG	
	BAI3	NN	NN	NN	NI	NN	NN	HD	NI	NG	HD	NI	NN	HD	NG	HD	HD	NG	
TalH	MAI1	NN	HD	NV	HD	NI	NG	NI	NN	NS	HD	HD	NI	NG	NI	NG	NI		
	CFBP1947	NN	HD	NV	HD	NI	NG	NI	NN	NS	HD	HD	NI	NG	NI	NG	NI		
	BAI3	NN	HD	NV	HD	NI	NG	NI	NN	NS	HD	HD	NI	*	*	*	*		
TalF	MAI1	NN	HD	NN	HD	NG	HD	HD	NG	HD	NI	*	NN	HD	HD	N*	NG	HD	NI
	CFBP1947	NN	NN	NN	HD	NI	NN	HD	HD	HD	NI	NN	NN	HD	HD	N*	NG	HD	NI
	BAI3	NN	HD	NV	HD	NI	NN	HD	HD	HD	NI	NN	NN	HD	HD	N*	NG	HD	NI

Figure 27. Recombinaison de RVD entre les effecteurs TAL des souches MAI1 et BAI3. D'après (Tran et al. 2018)

Les séquences RVD sont indiquées pour chaque variante d'effecteur TAL de chaque souche. Les couleurs de fond pour les RVD représentent des séquences répétées de nucléotides uniques, et les couleurs similaires indiquent des séquences répétées similaires au niveau des nucléotides, comme déterminé par l'alignement Needleman-Wunsch. Les étoiles rouges indiquent les polymorphismes des RVD au sein d'un locus. Les rectangles à lignes pleines mettent en évidence les répétitions partagées par TalF_{MAI1} et TalG_{MAI1}. Les rectangles en pointillés mettent en évidence les répétitions communes à TalF_{BAI3} et TalH_{BAI3}.

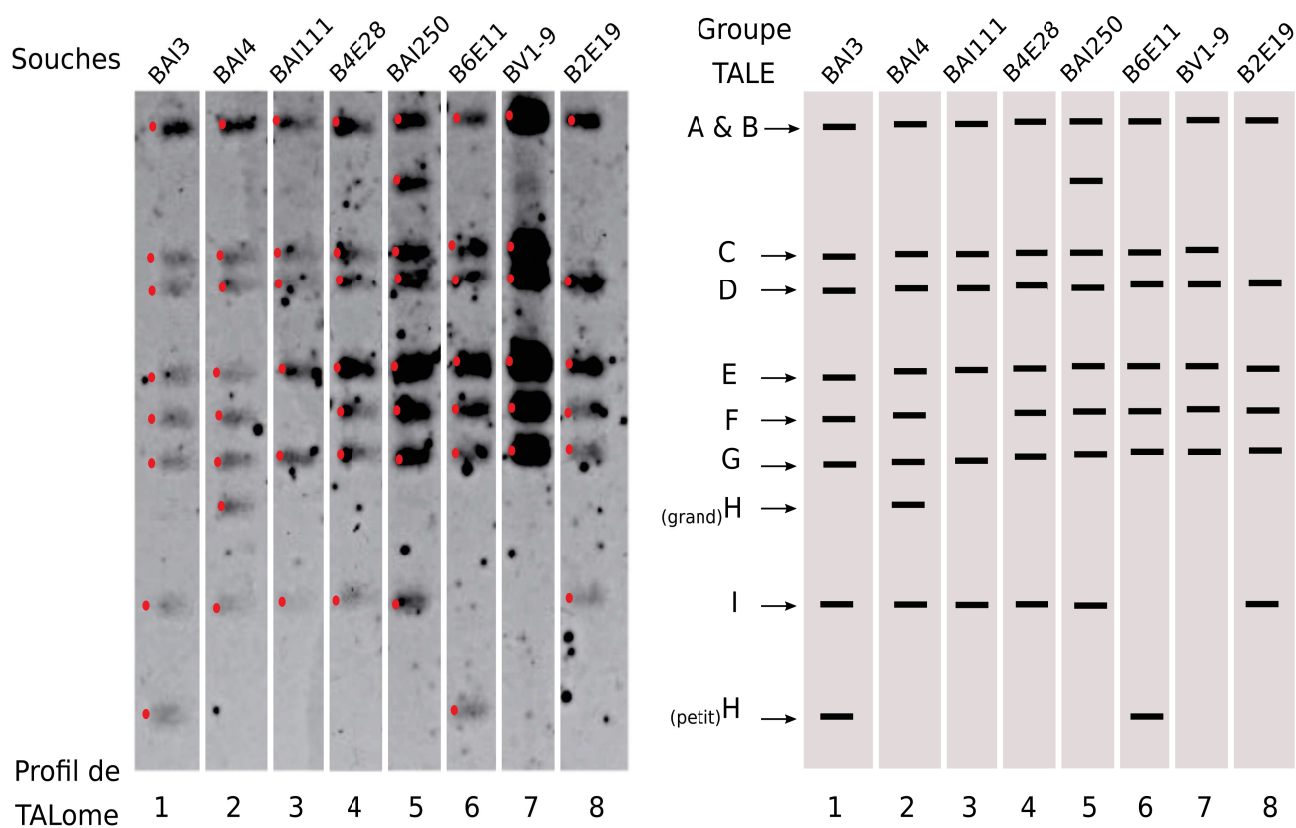


Figure 28. Les différents profils TAL-RFLP identifiés au sein de la collection CIX de l'IRD. D'après (Diallo et al. in prep)

L'ADN des souches a été digéré avec l'enzyme BamHI-HF coupant au niveau de séquences conservées en 3' et 5' de chaque TALE, de part et d'autre de la région centrale des répétitions. La sonde utilisée comporte la séquence codante de la région C-terminale du TalA de BAI3. Cette séquence étant très conservée chez les TALE ; la sonde s'hybride donc théoriquement avec tous les TALE.

Remerciements

Tout d'abord je souhaiterais remercier mes deux encadrants, Boris SZUREK et Mathilde HUTIN, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse. Cela fait maintenant plus de 3 ans que l'on se connaît, et au cours de ces dernières années j'ai beaucoup appris grâce à vous deux. **Boris**, merci de m'avoir pris sous ton aile dès mon stage de master 2, où je n'étais encore qu'une novice dans le monde de la science, et de m'avoir transmis ton savoir. Je te remercie du temps que tu m'as accordé et de ta bienveillance. **Mathilde**, avec toi une confiance mutuelle s'est instaurée petit à petit et je suis heureuse de voir comment les choses ont évolué entre nous. Je te remercie de m'avoir accompagné jusqu'ici, de m'avoir aidé tout au long de ce chemin, parfois semé d'embûches il faut le dire.

Ensuite, je remercie les membres de mon jury : Alia DELLAGI, Roland KÖLLIKER, Claire NEEMA, Nicolas CHEN et Laurence ALBAR, pour leur présence, leur temps et pour leur retour sur mon manuscrit.

Merci à tous les membres de mon équipe (XPLAIN) sans qui cette expérience n'aurait pas été la même : Florence, Lionel, Ralf, Sébastien; à mes copains de travail, qui pour certains sont devenus de vrais amis, d'avoir égayé mes moments de labo : Coline, Carlos, Carolina, Gabriel, Valentine, Dario, Senne, Laurent. Une petite pensée particulière à Leonor et Angeliki; jamais je n'aurai pensé en si peu de temps créer des liens aussi forts et garder ce lien même à distance et sur différents fuseaux horaires ! Merci pour tout le soutien que vous m'avez apporté pendant cette dernière année de thèse. Vous êtes merveilleuses, et je vous aime.

Merci à Clotilde, Cécile et Nathalie, vous êtes des femmes fantastiques, ne changez jamais. Ces moments café, accompagnés de petits gâteaux et de discussions, m'ont été d'un grand réconfort.

Merci à Mathias, à Julie, à Ndomassi, et à Alvaro pour m'avoir aidé dans mes analyses (bioinformatique, génétique, cartographie, ...), et pour les moments conviviaux passés ensemble.

Un merci à l'équipe ABIP/BRIO, merci à chacun d'entre vous (Gilles, Lionel, Pierre, Adrian, Eoghan, Ludivine, Nicolas, Isabelle) pour avoir partagé avec moi vos points de vue, perspectives de travail, et quelques verres aussi.

Merci à tous les doctorant.e.s avec qui j'ai passé ces 3-4 dernières années: Juliette, Lison, Fanni, Théo, Léo Paul, Anne-Sophie, Adrian, Eoghan; mais aussi aux autres gens du labo (ou pas) comme Fiona, Marie, Helena, Justine, et bien d'autres encore.

Merci à Sandrine F. de m'avoir pris sous ton aile lors de mon M2. Merci à Audrey V. pour tous les conseils que tu as pu me donner au cours de ces années. Merci à Morgane C. et à Nelly F. , qui ont apportés joie et bonheur à la fin de ma thèse. Morgane, mon double, merci de m'avoir rappelé que j'étais capable de tout. Nelly, je te souhaite plein de courage pour la fin de ta thèse, tu vas tout déchirer !

Je voudrais dire merci à toutes les personnes, encore présentes à l'IRD et celles qui ne le sont plus, qui m'ont sourit dans les couloirs, qui m'ont aidées dans mes travaux de recherche, toutes les personnes qui m'ont soutenues jusqu'au bout.

Merci à ma meilleure amie Jessy, qui même à distance était disponible H24, pour m'entendre raconter ma vie, râler, pleurer, etc. Merci de ton soutien sans faille. Comme dirait quelqu'un de

sûrement connu : "Une meilleure amie c'est une sœur que la vie a oublié de nous donner", alors même si j'en ai déjà 2, une 3e sœur n'a jamais été de refus; je t'aime.

Pour finir, je pense qu'il est essentiel de remercier ma famille, et sans vouloir trop sembler mélodramatique... vous êtes ma force au quotidien, mon soutien à toute épreuve, et je sais que je suis chanceuse de vous avoir à mes côtés. Merci d'avoir cru en moi jusqu'au bout et de m'avoir soutenue, je vous aime.

Acknowledgments

First of all I would like to thank my two supervisors, Boris SZUREK and Mathilde HUTIN, for giving me the opportunity to do this PhD. We have known each other for more than 3 years now, and during these last years I have learned a lot thanks to you both. **Boris**, thank you for taking me under your wing during my master 2 internship, when I was still a novice in the world of science, and for passing on your knowledge. I thank you for the time you gave me and for your kindness. **Mathilde**, with you a mutual trust has been established little by little and I am happy to see how things have evolved between us. I thank you for having accompanied me until now, for having helped me along this path, sometimes full of pitfalls it must be said.

Then, I thank the members of my jury: Alia DELLAGI, Roland KÖLLIKER, Claire NEEMA, Nicolas CHEN and Laurence ALBAR, for their presence, their time and for their feedback on my manuscript.

Thanks to all the members of my team (XPLAIN) without whom this experience would not have been the same: Florence, Lionel, Ralf, Sébastien; to my work mates, some of whom have become real friends, for having brightened up my lab moments: Coline, Carlos, Carolina, Gabriel, Valentine, Dario, Senne, Laurent.

A special thought to Leonor and Angeliki; I would never have thought in such a short time to create such strong links and to keep this link even at distance and on different time zones ! Thank you for all the support you have given me during this last year of my thesis. You are wonderful, and I love you.

Thanks to Clotilde, Cécile and Nathalie, you are fantastic women, never change. These coffee moments, accompanied by small cakes and discussions, were a great comfort to me.

Thanks to Mathias, Julie, Ndomassi, and Alvaro for helping me in my analyses (bioinformatics, genetics, cartography, ...), and for the convivial moments spent together.

Thanks to the ABIP/BRIO team, thanks to each of you (Gilles, Lionel, Pierre, Adrian, Eoghan, Ludivine, Nicolas, Isabelle) for sharing with me your points of view, work perspectives, and some drinks too.

Thanks to all the PhD students with whom I spent the last 3-4 years: Juliette, Lison, Fanni, Théo, Léo Paul, Anne-Sophie, Adrian, Eoghan; but also to the other people of the lab (or not) like Fiona, Marie, Helena, Justine, and many others.

Thanks to Sandrine F. for taking me under your wing during my M2. Thank you to Audrey V. for all the advice you gave me during these years. Thanks to Morgane C. and Nelly F. who brought joy and happiness at the end of my thesis. Morgane, my double, thank you for reminding me that I was capable of anything. Nelly, I wish you a lot of courage for the end of your thesis, you are going to tear it up!

I would like to say thank you to all the people, still present at IRD and those who are no longer, who smiled at me in the corridors, who helped me in my research work, all the people who supported me until the end.

Thank you to my best friend Jessy, who even from distance was available H24, to hear me tell my life story, to grumble, to cry, etc. Thank you for your unfailing support. As someone famous would

say: "A best friend is a sister that life forgot to give us", so even if I already have 2, a 3rd sister was never a bad thing; I love you.

Finally, I think it is essential to thank my family, and without wanting to sound too melodramatic... you are my daily strength, my support at all times, and I know I am lucky to have you by my side. Thank you for believing in me until the end and for supporting me, I love you.

Résumé

La bactériose vasculaire du riz, causée par la bactérie à gram-négatif *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), est une des maladies les plus dévastatrices des cultures de riz en Afrique de l'Ouest et en Asie. Grâce à son système de sécrétion de type III, *Xoo* injecte ses effecteurs de type TAL ("Transcription Activator-Like") au sein de la cellule végétale hôte. Grâce à leurs signaux de localisation nucléaire (NLS), les TALE sont ensuite importés au noyau où ils ont la capacité de se fixer, par le biais de leur région centrale composée de répétitions en tandem, au promoteur d'un gène hôte au niveau d'une séquence appelée EBE (pour "Effector Binding Element"), et d'initier la transcription via leur domaine d'activation (AD). *Xoo* est ainsi capable de moduler l'expression des gènes de la plante en détournant sa machinerie transcriptionnelle et d'induire des gènes dits de sensibilité (*S*) qui favorisent le développement de la bactérie et donc de la maladie. Dans certains cas, les TALE peuvent activer des gènes dits exécuteur (*E*) dont l'expression entraîne des réactions de défenses de la plante et provoque la résistance. Des analyses de diversité génétique ont montré que *Xoo* comprend deux lignées correspondant aux souches Africaines et Asiatiques. Elles se distinguent notamment par le nombre de gènes *tal* qu'elles possèdent, mais aussi par le type de résistance qu'elles élicitent. De fait, aucune des races identifiées en Afrique n'a été retrouvée en Asie.

L'objectif de cette thèse était d'identifier des sources de résistance chez le riz afin d'apporter de nouvelles stratégies de contrôle de la bactériose vasculaire du riz en Afrique. Des analyses préliminaires avaient permis de mettre en évidence par une approche de gain-de-fonction, plusieurs TALE de la souche Malienne MAI1 ayant une activité potentielle d'avirulence sur les variétés de riz IR64, CT13432 et FKR47N. Afin de confirmer ces résultats, une approche par perte-de-fonction a été entreprise, consistant à cribler une banque de mutants BAI3 Δ *tal* générés dans la souche Burkinabè BAI3, dont le TALome (répertoire de gènes *tal*) est très proche de celui de MAI1, sur chacune des trois variétés résistantes. Ces travaux ont permis de valider le rôle d'avirulence de TalD et TalI sur les variétés IR64 et CT13432, respectivement. Il a également été démontré que la résistance de CT13432 aux souches MAI1 et BAI3 résultait de la combinaison de deux mécanismes de résistance, l'un reposant sur l'induction, médiée par TalI, d'un gène exécuteur encore inconnu, et l'autre sur un allèle du gène de résistance *Xa1*. Dans un second temps, afin d'approfondir nos connaissances sur la résistance conférée par IR64 aux souches Africaines de *Xoo*, le criblage d'une population de lignées recombinantes de génération F₁₁, provenant du croisement entre la variété résistante IR64 et la variété sensible Azucena, a été mené. Cette étude a permis de confirmer deux QTL, *qABB-7* et *qABB-11*, préalablement rapportés dans une autre étude, et d'identifier quatre nouveaux QTL de résistance aux souches Africaines de *Xoo*. Pour finir, des analyses de type RNAseq ont été réalisées sur la variété résistante IR64 et la variété sensible Nipponbare, dont les génomes séquencés sont disponibles, afin de caractériser leur transcriptome en réponse à des souches Africaines de *Xoo*. L'activité d'avirulence de TalD chez IR64 ayant été démontrée, une comparaison de l'expression différentielle des gènes induits par MAI1 et BAI3 avec le mutant BAI3 Δ *talD* a été effectuée, permettant d'identifier de potentiels gènes *E* candidats expliquant la résistance TalD-dépendante de IR64. Ces travaux représentent une première étape dans le développement de nouvelles stratégies basées sur le déploiement de sources de résistance durables afin de lutter contre la bactériose vasculaire du riz en Afrique.

Abstract

Bacterial Leaf Blight (BLB), caused by the gram-negative bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), is one of the most devastating diseases of rice in West Africa and Asia. *Xoo* injects through its type-III secretion system a full cocktail of TAL ("Transcription Activator-Like") effectors into the host plant cell. By means of their nuclear localization signals (NLS) TALEs are next imported into the host nucleus where they bind through central tandem repeats to host promoter targets at a sequence called EBE ("Effector Binding Element"), with the final aim of initiating gene transcription thanks to their activation domain (AD). *Xoo* is thus able to modulate the expression of plant genes by hijacking the plant transcriptional machinery and induce so-called susceptibility (*S*) genes that favor the development of the bacterium and disease consequently. In some cases, TALEs can activate so-called executor (*E*) genes whose expression leads to plant defense reactions and results in resistance. Genetic diversity analyses have shown that *Xoo* is comprised of two lineages corresponding to strains from Africa for one and Asian strains for the other. African and Asian *Xoo* differ in their number of *tal* genes, but also in the type of resistance they elicit. Noteworthy, none of the races identified in Africa have been found in Asia.

The objective of this thesis was to identify sources of resistance in rice in order to provide new strategies for the control of BLB in Africa. In a gain-of-function approach, preliminary analyses identified several TALEs of the Malian strain MAI1 with potential avirulence activity on the rice varieties IR64, CT13432 and FKR47N. To further confirm these results, a loss-of-function approach was undertaken, consisting in the inoculation of a library of BAI3 Δ *tal* mutants deriving from the *Xoo* Burkinabe strain BAI3, whose TALome (*tal* genes repertoire) is very similar to that of MAI1, on each of the three resistant varieties. This work validated the avirulence role of TalD and TalI on the matching rice varieties IR64 and CT13432, respectively. We also showed that the resistance exhibited by CT13432 against MAI1 and BAI3 results of the combination of two resistance mechanisms, one based on the TalI-mediated induction of an as yet unknown executor gene, and the other on an allele of the *Xa1* resistance gene. In a second step, in order to deepen our knowledge on the resistance conferred by IR64 to African *Xoo* strains, the screening of a population of recombinant inbred lines of F₁₁ generation, resulting from the cross between the resistant variety IR64 and the susceptible variety Azucena, was conducted. This study confirmed two QTL, *qABB-7* and *qABB-11*, previously reported in another study, and also identified four new QTL of resistance against African *Xoo* strains. Finally, RNAseq analyses were performed on the resistant variety IR64 and the susceptible variety Nipponbare, which genomes are sequenced, to characterize their transcriptome in response to African *Xoo*. The avirulence activity of TalD in IR64 being demonstrated, a comparison of the differential expression of genes induced by MAI1 and BAI3 with the BAI3 Δ *talD* mutant was performed, allowing the identification of potential candidate *E*-genes induced by TalD in IR64. This work represents a first step in the development of new strategies based on the deployment of sustainable sources of resistance to control BLB in Africa.

Table des figures

Figure 1. Modèle en Zig-Zag de coévolution des gènes de résistance de plantes et des effecteurs d'agents pathogènes.....	v
Figure 2. Reconnaissance des bactéries par les PRRs (Plant Pattern-Recognition Receptors).....	vi
Figure 3 . Structures des récepteurs NB-LRRs chez les plantes.....	vii
Figure 4. Deux modèles de liaison ATP/ADP des NB-LRRs chez les plantes.....	vii
Figure 5. Trois modèles de reconnaissance des effecteurs par les NB-LRRs des plantes.....	viii
Figure 6. Analyse par "single marker regression" (SMR) d'un caractère hypothétique dans une population F ₂ simulée de 100 individus.....	ix
Figure 7. Avantage de l'analyse "simple interval mapping" (SIM) par rapport au SMR.....	x
Figure 8. Production et superficie mondiales de riz paddy entre 2009 et 2018.....	xi
Figure 9. Production et importation du riz en Afrique de l'ouest.....	xi
Figure 10. Schéma de l'origine du riz domestiqué d'après (Civan et al. 2015).....	xii
Figure 11. Les structures de surface des bactéries participant à leur pouvoir pathogène.....	xiii
Figure 12. Représentation schématique d'un système de sécrétion de type III (SST3) présent chez les bactéries phytopathogènes (Buttner and He 2009).....	xiv
Figure 13. Représentation schématique des systèmes de sécrétions présents chez <i>Xanthomonas</i> spp. (Buttner and Bonas 2009).....	xv
Figure 14. Structure type d'un effecteur TAL de <i>Xanthomonas</i>	xv
Figure 15. Modèle de la spécificité de l'interaction de l'ADN-cible et des TALE.....	xvi
Figure 16. Effecteurs TAL de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> en interaction avec la cellule végétale..	xviii
Figure 17. Gènes OsSWEET du riz répartis en cinq clades en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre.....	xix
Figure 18. Convergence fonctionnelle des effecteurs bactériens TAL dans différents pathosystèmes et leurs cibles végétales.....	xx
Figure 19. Symptômes typiques provoquées par Xoo et Xoc sur le riz, et leur localisation cellulaire lors de l'infection.....	xxii
Figure 20. "Minimum spanning tree" d'une collection mondiale de <i>Xanthomonas oryzae</i>	xxiii
Figure 21. Représentation et alignement des séquences en RVD des TALE des souches Africaines MAI1, BAI3 et CFBP1947 de Xoo.....	xxiv
Figure 22. Cartographie fine du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Wang et al. 2021).....	lxxxix
Figure 23. Complémentation fonctionnelle du gène candidat <i>Xa7</i> . D'après (Wang et al. 2021).....	lxxxiv
Figure 24. Clonage positionnel du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Chen et al. 2021).....	lxxxv
Figure 25. Cartographie fine et identification du gène de résistance <i>Xa7</i> , schéma inspiré de (Luo et al. 2021).....	lxxxvi
Figure 26. Mécanismes d'évolution des effecteurs TAL. D'après (Perez-Quintero and Szurek 2019)..	lxxxvi
Figure 27. Recombinaison de RVD entre les effecteurs TAL des souches MAI1 et BAI3. D'après (Tran et al. 2018).....	lxxxvii
Figure 28. Les différents profils TAL-RFLP identifiés au sein de la collection CIX de l'IRD. D'après (Diallo et al. in prep).....	lxxxviii

Article 1

Figure 1. BAI3 Δ talD loses avirulence on IR64 but BAI3 Δ talI and BAI3 Δ talF do not on CT13432 and FKR47N.....	xxviii
Figure 2. The resistance of CT13432 and FKR47N against African Xoo is largely suppressed by a truncTALE.....	xxix
Figure 3. The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of Xa1.....	xxx
Figure 4. Suppression of Xa1-like resistance unmasks TalI avirulence activity in the rice variety CT13432.....	xxxii
Fig. S1 Western-blot analysis of PXO99A Xoo transformant total protein extracts using an anti-TALE antibody.....	xxxiii
Figure S2. Molecular characterization of a library of BAI3 Δ tal mutant strains.....	xxxiii
Figure S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with BAI3 Δ talI and BAI3 Δ talF mutants.....	xxxiv
Figure S4. The tal2h truncTALE reveals Xa1-like resistance against the Xoo strain BAI3 in several rice varieties.....	xxxv
Figure S5. Western-blot analysis of Xoo total protein extracts using an anti-TALE antibody.....	xxxv

Article 2

Figure 1. Lesion lengths distribution in the F11 population following inoculation with African and Asian strains of Xoo.....	xli
Figure 2. Density curve of the lesion lengths of the F11 population following inoculation with African and Asian Xoo strains.....	xlii
Figure 3. RVD sequences comparison of the TALome of Xoo strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3....	xliv
Figure 4. Linkage of an avirulent TALE to the QTL on chromosome 11 conferring resistance to African Xoo strains.....	xlvi
Figure 5. Evaluation of the resistance of IR64 upon inoculation of a set of African Xoo strains displaying diverse talD allelic variants.....	xlvi
Figure 6. Fine mapping of the QTL interval on chromosome 11.....	xlix
Figure S1. Graphic representation of the QTL peaks revealed by the inoculation of MAI1, BAI3 and PXO99A.....	l
Figure S2. Synteny of chromosomes 7 and 11 between Azucena and IR64.....	li
Figure S3. Amino-acid alignment of the four candidate genes in the overlapped region.....	lii

Article 3

Figure 1. Phenotypic characterization of TalD avirulence factor on the IR64 rice variety.....	lxvii
Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) of RNAseq libraries.....	lxviii
Figure 3. Differential gene expression of OsSWEET14 in Nipponbare and IR64 rice varieties.....	lxix

Figure 4. Venn diagram of differential expressed genes in IR64 and Nipponbare, upon the inoculation of MAI1, BAI3 and the BAI3 Δ talD(EV) mutant strains.....lxx

Figure S1. Western blot of total protein extracts of Xoo using an anti-TALE polyclonal antibody.....lxxvi

Figure S2. Induction of the susceptibility (S) gene OsSWEET14 in the RNA samples.....lxxvii

Figure S3. Up- and down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in Nipponbare.....lxxviii

Figure S4. Down-regulated genes by MAI1 and BAI3 in IR64.....lxxix

Figure S5. Clustal Omega protein alignment of OsSPL6 protein.....lxxx

Table des tableaux

Tableau 1. Modèle de l'interaction "gène-pour-gène", selon Flor (1955).....	vi
Tableau 2. Nombre de gènes SWEET au sein de certaines espèces du règne des Plantae.....	xvii
Tableau 3. Races de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> Africaines sur 12 lignées de riz quasi-isogéniques (NILs) contenant un seul gène de résistance dans le fond génétique IR24.....	xxi
Tableau 4. Gènes de résistance à Xoo (R et E) connus à ce jour.....	xxvi
Tableau 5. Gènes d'avirulence et gènes de résistance au sein du genre <i>Xanthomonas</i> chez différents pathosystèmes.....	lxxxiii

Article 1

Table 1. Four African TALEs mediate resistance when expressed in PXO99A on resistant varieties. .	xxvii
Table S1. Rice accessions screened for resistance to African Xoo strains MAI1, BAI3 and susceptibility to PXO99A.....	xxxvii
Table S2. Prevalence of Xa1-like activity in rice accessions resistant to African Xoo strains MAI1 and BAI3.....	xxxviii
Table S3. List of primers used in this study.....	xxxviii
Table S4. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	xxxix

Article 2

Table 1. Lesion lengths induced by African Xoo on recombinant inbred lines of the F ₁₁ generation and their parents.....	xl
Table 2. List of QTL revealed by the inoculation of African and Asian Xoo strains on the F ₁₁ IR64 x Azucena population.....	xliii
Table 3. Lesion lengths induced by African Xoo on recombinant inbred lines of the F ₃ generation and their parents.....	xlvii
Table S1. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	liii
Table S2. List of genes located in the QTL intervals on chromosomes 7 and 11, in IR64 and their orthologs in Azucena rice variety.....	lxvi

Article 3

Table 1. Common differentially expressed genes induced by BAI3 and MAI1.....	lxxi
Table 2. Genes in the QTL interval of qABB-11 with a binding site predicted for TalD.....	lxxii
Table 3. Differentially expressed genes located in the QTLs in IR64 revealed by MAI1 and BAI3.....	lxxiii
Table 4. List of candidate genes differentially expressed between BAI3 and mock conditions in IR64, located in <i>qABB-11</i>	lxxiv
Table 5. List of candidate genes involved in MAI1 and/or BAI3 resistance in IR64.....	lxxv
Table S1. Bacterial strains and plasmids used in this study.....	lxxx

Table des matières

Remerciements.....	1
Acknowledgments.....	3
Résumé.....	5
Introduction générale.....	10
I. Généralités sur les interactions plantes - micro-organismes.....	10
1. Les différents types d'interactions.....	10
2. Les systèmes de défense de la plante.....	10
a) Les défenses constitutives.....	10
b) Les défenses induites : un système immunitaire inné à deux niveaux.....	11
i. Les défenses non-spécifiques : Pattern-Triggered Immunity "PTI".....	11
ii. Les défenses spécifiques: Effector-Triggered Immunity "ETI".....	14
3. Transduction du signal éliciteur.....	20
a) L'influx de Ca ²⁺	20
b) La production de ROS.....	21
c) Les MAP kinases.....	21
d) Les hormones végétales.....	22
4. Contournement de la résistance (ETS).....	24
II. Cartographie génétique et localisation de locus à effet quantitatif (QTL).....	25
1. Généralités sur la cartographie génétique.....	25
2. La détection de QTL.....	26
3. Les modèles d'analyses.....	28
III. Le riz.....	29
1. L'importance du riz dans le monde: une céréale majeure dans l'alimentation.....	29
2. Le genre <i>Oryza</i>	30
a) Généralités.....	30
b) Caractéristique des deux espèces cultivées.....	31
3. Les ressources génétiques et génomiques disponibles.....	32
a) Ressources génétiques.....	33
b) Ressources génomiques.....	36
c) Amélioration variétale.....	38
4. Les menaces des cultures de riz.....	40
a) Stress abiotiques.....	40
b) Stress biotiques.....	41
IV. Le genre <i>Xanthomonas</i>	42
1. Généralités.....	42
2. Génomique et <i>Xanthomonas</i>	42

3. Les déterminants du pouvoir pathogène.....	45
a) Les structures de surface des bactéries.....	45
b) Les systèmes de sécrétion.....	46
i. Le système de sécrétion de type 3.....	46
ii. Les autres systèmes de sécrétion.....	47
4. Les effecteurs TAL et non-TAL.....	48
V. L'interaction TALE-hôte.....	49
1. Structure des TALE.....	49
2. Mécanisme de reconnaissance TALE-ADN.....	50
3. La sensibilité à travers les TALE.....	51
a) Les transporteurs membranaires.....	51
b) Les facteurs de transcription.....	52
4. L'immunité et les TALE.....	54
a) La résistance par perte de sensibilité : contournement de l'ETS.....	54
b) Induction des gènes exécuteurs (<i>E</i>).....	54
i. Le premier gène exécuteur identifié.....	55
ii. Les autres gènes exécuteurs connus.....	55
c) <i>Xa1/Xo1</i> et <i>Bs4C</i> : des exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant.....	57
5. Les différents cas de contournement de la résistance par <i>Xoo</i>	58
a) Contournement de la résistance <i>Xa4</i> : expansion de la race 2.....	58
b) Contournement de la résistance <i>Xa7</i> : expansion de la race 9b.....	59
c) Contournement de la résistance <i>Xa1/Xo1</i> : les TALE interférant/tronqués.....	60
6. Les applications des TALE en science.....	61
a) Les outils bioinformatiques développés.....	61
i. Prédiction des cibles de TALE.....	61
ii. Design des TALE.....	61
iii. La suite QueTAL.....	62
b) TALE et édition de génome.....	63
VI. <i>Xanthomonas oryzae</i>	64
1. L'espèce <i>X. oryzae</i>	64
a) Origines et répartitions.....	64
b) Diversité de <i>X. oryzae</i>	66
2. <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> , agent de la bactériose vasculaire du riz.....	67
3. Les souches Africaines de <i>Xoo</i> vs les souches Asiatiques de <i>Xoo</i>	67
a) Les différences générales entre les souches de <i>Xoo</i> Africaines et Asiatiques.....	67
b) Déclenchement de la résistance : des cibles diverses.....	68
Projet de thèse.....	70

Chapitre 1 : Identification d'effecteurs TAL ayant une activité d'avirulence dans les souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	72
Chapitre 2 : Identification de QTL majeurs et mineurs conférant la résistance aux souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> chez le riz (<i>Oryza sativa</i> ssp. <i>indica</i>).....	104
Chapitre 3 : Utilisation d'une approche de RNA-seq pour identifier des gènes exécuteurs candidats contre les souches Africaines de <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	123
Discussion générale.....	145
I. Le rôle central des effecteurs de type TAL dans le genre <i>Xanthomonas</i>	145
II. Quelle est la meilleure approche pour identifier des gènes de résistance à <i>Xanthomonas</i> ?.....	146
III. La course aux armements: quelles sont les stratégies évolutives mises en place par la plante et la bactérie pour survivre ?.....	149
a) Evolution des gènes de résistance chez les plantes : les NB-LRR.....	149
b) Evolution des gènes <i>tal</i> chez <i>Xanthomonas</i>	150
IV. Quels sont les mécanismes qui régissent l'évolution des TALomes ?.....	151
V. Que nous reste-t-il à découvrir encore sur les TALE ?.....	152
VI. Quelles sont les stratégies pour maintenir la résistance des cultures ?.....	153
Conclusions & Perspectives.....	155
Annexes.....	157
Références bibliographiques.....	160

Introduction générale

I. Généralités sur les interactions plantes - micro-organismes

1. Les différents types d'interactions

Tout comme les êtres humains, les plantes ne font pas exception à cette règle universelle qui est de partager leur environnement avec une myriade de micro-organismes. Souvent invisibles à l'œil nu, les interactions entre les plantes et les micro-organismes se produisent de différentes manières et à différents niveaux. Il en résulte plusieurs types d'interactions : neutres, mutuellement bénéfiques ou nuisibles, dont les micro-organismes respectifs sont communément appelés commensaux, symbiotes et pathogènes. Lors de ces interactions les plantes servent de niche écologique pour les micro-organismes qui peuvent coloniser les espaces apoplastiques, la surface de la plante ou encore les zones adjacentes à la surface de la plante, comme par exemple la rhizosphère (sol à proximité des racines). En plus d'une niche écologique et d'une source future de nutriments qui seront disponibles à la mort de la plante, de nombreuses plantes libèrent des composés qui attirent et nourrissent les micro-organismes associés. Ces derniers peuvent, dans certains cas, à leur tour sécréter des composés qui favorisent la croissance de la plante et/ou la rendre plus résistante aux stress biotiques et abiotiques (Schirawski and Perlin 2018).

Différents termes sont utilisés pour catégoriser les relations trophiques entre les plantes et les micro-organismes. Cette qualification implique la notion de transfert de ressources, comme les nutriments, d'un partenaire à l'autre. Lorsque les plantes restent vivantes pendant les échanges de nutriments, on parle d'interactions "biotrophes". Au contraire, lorsque le micro-organisme tue les cellules et les tissus végétaux pour se nourrir des restes, ce qui est caractéristique de plusieurs phytopathogènes, on parle d'interactions "nécrotrophes". Dans la pratique, sont reconnus de nombreux états intermédiaires caractérisés par des transitions temporelles et/ou spatiales entre la biotrophie et la nécrotrophie; ces relations sont qualifiées d' "hémibiotrophes" (Vleeshouwers and Oliver 2014). Lorsque les micro-organismes sont simplement capables de se nourrir de restes de plantes mortes sans jouer aucun rôle dans la mort, on parle d'interactions "saprotrophes" (Lewis 1973).

2. Les systèmes de défense de la plante

a) Les défenses constitutives

Au fil de l'évolution, les plantes ont développé diverses stratégies pour faire face aux agents pathogènes. Tout d'abord les micro-organismes phytopathogènes sont confrontés aux défenses constitutives de la plante qui sont d'ordre structural et biochimique. Ces dernières ne nécessitent pas

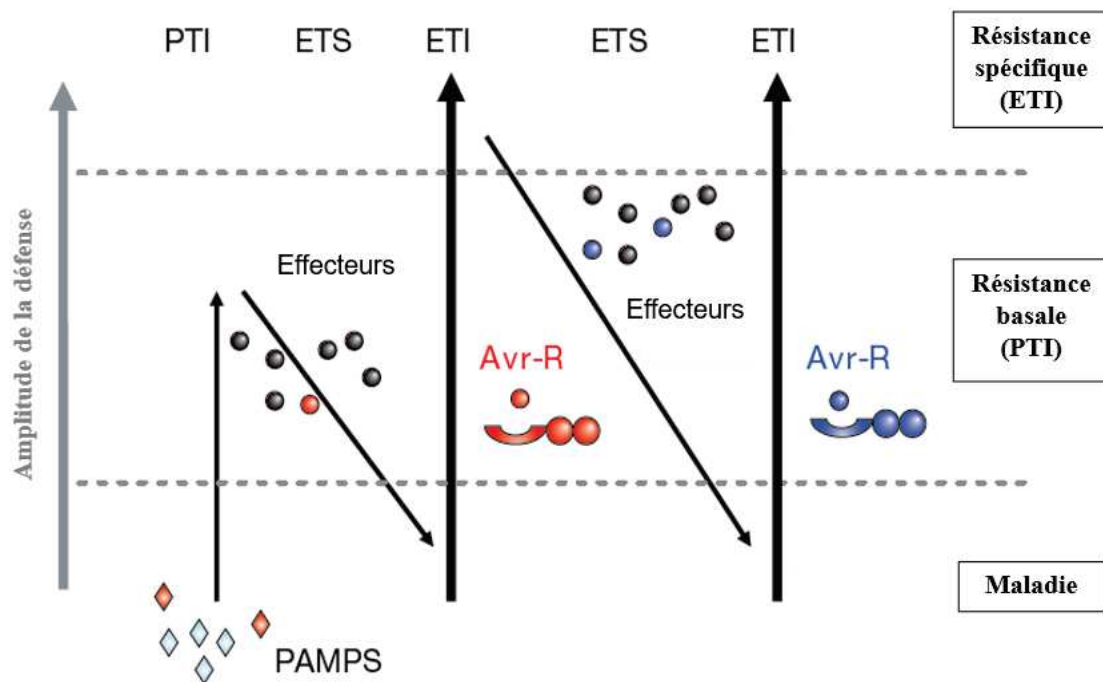


Figure 1. Modèle en Zig-Zag de coévolution des gènes de résistance de plantes et des effecteurs d'agents pathogènes.

En présence d'éliciteurs généraux de type PAMP, la plante met en place la PTI (Immunité médiée par les PAMPs), une réponse de défense non-spécifique et d'une faible amplitude. Si le pathogène injecte des effecteurs pour contourner cette voie de défense, la plante devient sensible, c'est l'ETS (Sensibilité induite par les effecteurs). Lorsque la plante possède un gène de résistance (*R*) codant pour une protéine capable de reconnaître spécifiquement un de ces effecteurs, une résistance d'une amplitude importante est mise en place par la plante : c'est l'ETI. L'effecteur reconnu est alors appelé protéine d'avirulence (*Avr*). Au fil du temps le pathogène évolue, et acquiert de nouveaux effecteurs, ce qui lui permet de déjouer les défenses spécifiques de la plante ; ce jusqu'à ce que de nouvelles protéines de résistance (*R*) apparaissent. Schéma adapté de Jones et Dangl (2006).

la détection du pathogène pour être mises en place. L'épiderme des plantes, qui est la première surface rencontrée par les micro-organismes, est généralement constituée d'une assise de cellules vivantes dont la paroi externe est principalement composée de cutine et de cires qui forment la cuticule, permettant de rendre l'épiderme plus ou moins imperméable. La paroi cellulaire végétale qui se compose de microfibrilles de cellulose, de pectine, d'hémicelluloses, de protéines et, dans certains cas, de lignine, est un autre composant de l'épiderme, qui avec la cuticule forment une première ligne de défense contre les attaques des pathogènes en limitant leur entrée dans les tissus végétaux. D'autre part, les plantes produisent aussi des métabolites secondaires aux propriétés antimicrobiennes parmi lesquelles on trouve les phytoanticipines. Ces composés sont produits dans le cadre de la croissance et du développement des plantes de façon constitutive et sont généralement stockés dans des organes ou des tissus spécialisés (e.g. les trichomes, les glandes oléifères ou les couches cellulaires épidermiques) (Lee et al. 2017).

b) Les défenses induites : un système immunitaire inné à deux niveaux

A la différence des défenses constitutives, la perception de l'agent pathogène par la plante est nécessaire à la mise en place des défenses induites. Deux situations sont possibles lors de la détection du pathogène. Premièrement, si l'agent pathogène est capable de se multiplier et d'entraîner le développement de la maladie, il est qualifié de virulent et la plante de sensible; ici on parle d'interaction compatible. Dans le cas contraire, lorsque la plante arrive à prévenir la colonisation par l'agent pathogène l'interaction est dite incompatible, et la plante est alors résistante. Deux types de réactions de défenses induites sont décrites à ce jour : i) les réponses de défense non-spécifiques (PTI pour "PAMP-Triggered Immunity", ou Immunité médiée par les PAMP), aussi appelée "réponses générales de défense", et ii) les réponses de défense spécifiques (ETI pour "Effector-Triggered Immunity", ou Immunité médiée par les Effecteurs). Le modèle dit "en Zig-Zag" illustre bien la dynamique évolutive sous-jacente à ces deux niveaux de résistance de la plante et aux éliciteurs microbiens (Figure 1, (Jones and Dangl 2006)).

i. Les défenses non-spécifiques : Pattern-Triggered Immunity "PTI"

Dans le cas de la résistance non-spécifique (PTI), la plante reconnaît des motifs moléculaires conservés, dérivés de l'agent pathogène appelés PAMP ("Pathogen-Associated Molecular Patterns"), tel que la flagelline (issue du flagelle bactérien), la chitine (présentes chez des champignons, insectes...) ou encore les lipopolysaccharides (LPS, composants de la membrane externe des bactéries à gram négatif) (Jones and Dangl 2006; Dodds and Rathjen 2010). Comme les PAMP sont souvent dérivés de microbes non-pathogènes, ils sont préférentiellement appelés motifs moléculaires associés aux microbes (MAMP ou "Microbe-Associated Molecular Patterns").

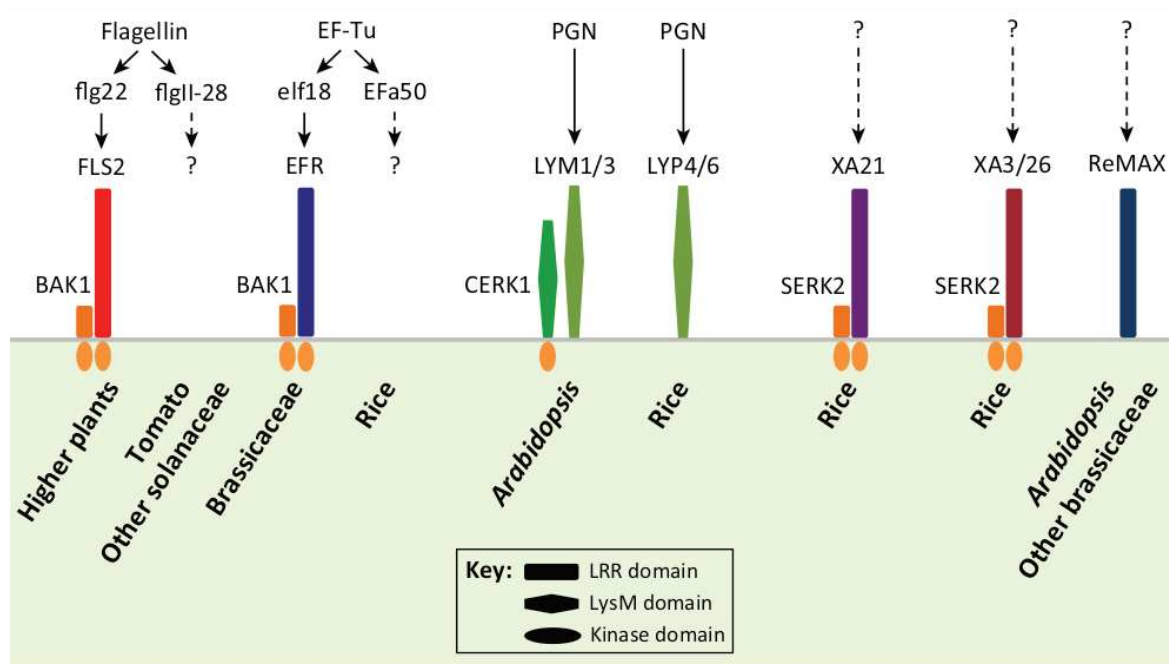


Figure 2. Reconnaissance des bactéries par les PRRs (Plant Pattern-Recognition Receptors).

Le récepteur kinase à domaine riche en leucine (RK-LRR, “Leucine-Rich Repeat Receptor Kinase”) FLS2 reconnaît la flagelline via l'épitope flg22. L'épitope flgII-28 est reconnu par la tomate et d'autres Solanacées via un PRR encore inconnu. Le RK-LRR EFR perçoit le facteur d'élongation Tu (EF-Tu) chez les Brassicacées au niveau de l'épitope elf18, un autre épitope reconnu chez le riz par un PRR non identifié. FLS2 et EFR interagissent avec le corécepteur RK (“Receptor Kinase”) BAK1 immédiatement après la reconnaissance de flg22 et elf18 respectivement. Les peptidoglycans (PGNs) sont reconnus chez *Arabidopsis* par les RLPs-LysM (“lysine motif receptor-like proteins”) LYM1 et LYM3, qui peuvent former un complexe avec la protéine RK-LysM CERK1. Chez le riz les récepteurs LysM impliqués sont LYP4 et LYP6. Toujours chez le riz, les RK-LRRs XA21 et XA3/26 interagissent avec la protéine RK-LRR OsSERK2 et confèrent la résistance à *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Le PAMP (“Pathogen-Associated Molecular Patterns”) reconnu par XA21 a été identifié récemment, il s'agit de la protéine RaxX (Pruitt et al., 2015). Le PAMP de *Xanthomonas* reconnu par le récepteur ReMAX chez *Arabidopsis* n'est pas identifié. Les flèches noires indiquent une liaison directe alors que les flèches en pointillé indiquent que la liaison directe n'a pas encore été démontrée ou que le PRR ou le PAMP n'a pas encore été identifié (Zipfel, 2014).

		Génotype de la plante	
		<i>R</i>	<i>r</i>
Génotype du pathogène	<i>Avr</i>	Interaction incompatible	Interaction compatible
	<i>avr</i>	Interaction compatible	Interaction compatible

Tableau 1. Modèle de l'interaction "gène-pour-gène", selon Flor (1955).

Lorsque le gène de résistance (*R*) de la plante est en présence du gène d'avirulence (*Avr*) correspondant chez le pathogène l'interaction est incompatible : la plante est résistante. Dans le cas des autres combinaisons l'interaction est compatible et la maladie se développe.

La plante reconnaît ainsi les MAMP à l'aide de récepteurs membranaires appelés PRR ("Pattern Recognition Receptors"). Ces récepteurs sont i) soit de type RK ("Receptor Kinase" ou Récepteur Kinase), comprenant en plus d'un domaine transmembranaire, un domaine kinase intracellulaire et un domaine récepteur extracellulaire de type LysM ("Lysine Motif") ou LRR ("Leucine Rich Repeat" ou domaine riche en leucine), ii) soit de type RLP ("Receptor Like Proteins") se composant des mêmes domaines que les RK à l'exception du domaine kinase cytoplasmique qui est absent (Figure 2, (Zipfel 2014).

Ces récepteurs sont également capables de détecter des motifs moléculaires associés à des dommages causés par les micro-organismes, les DAMP ("Damage-Associated Molecular Patterns"). Ces éliciteurs endogènes sont produits suite à l'action des enzymes du pathogène au cours du processus d'infection menant à la dégradation de la paroi cellulaire végétale ou de la cuticule (Hamann 2012; Yeats and Rose 2013; Serrano et al. 2014). La reconnaissance des DAMP déclenche également des réponses immunitaires non-spécifiques (PTI) (Bigeard et al. 2015).

- Perception des bactéries

La première paire PAMP/PRR identifiée chez une plante fut le récepteur RK-LRR FLS2 (Flagellin-Sensitive 2) d'*Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) qui reconnaît un peptide à la surface du flagelle bactérien de *Pseudomonas aeruginosa* nommé flg22 (Gómez-Gómez and Boller 2000; Bauer et al. 2001). Ce dernier est un épitope de 22 acides aminés (aa) conservés en N-terminal de la flagelline. La liaison de flg22 à FLS2 provoque l'hétérodimérisation de ce dernier avec BAK1 ("BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1-associated kinase 1") et leur activation réciproque est suivie par l'induction du système immunitaire (Figure 2, (Sun et al. 2013). La flagelline est reconnue par de nombreuses plantes et des orthologues fonctionnels de FLS2 ont été identifiés chez le tabac, le riz, la tomate et la vigne (Hann and Rathjen 2007; Robatzek et al. 2007; Takai et al. 2008; Trdá et al. 2014). La perception du facteur d'élongation bactérien EF-Tu par le récepteur RK-LRR EFR d'*A. thaliana* est une autre paire PAMP/PRR bien étudiée (Figure 2). Le récepteur EFR reconnaît directement l'épitope N-acétylé conservé elf18, provenant d'*Escherichia coli*, qui correspond aux 18 premiers acides aminés de EF-Tu (Kunze et al. 2004; Zipfel et al. 2006).

D'autres molécules appelées peptidoglycanes (PGN), qui constituent un des composés majeurs des parois cellulaires bactériennes, sont perçues par les plantes comme des PAMP. Différentes études suggèrent que la perception des PGN chez les plantes utilise un système de récepteurs multimériques comprenant des RLP-LysM se liant aux PGN et des RK-LysM transmettant le signal (Zipfel and Oldroyd 2017). Chez *Arabidopsis*, cette perception implique deux récepteurs RLP-LysM, AtLYM1 et AtLYM3, qui se lient spécifiquement aux PGN et également le récepteur RK-LysM CERK1, qui ne se lie pas aux PGN eux-mêmes (Willmann et al. 2011). Chez le riz la

perception des PGN implique les orthologues RLP-LysM OsLYP4 et OsLYP6 (Liu et al. 2012a) (Figure 2).

Par ailleurs, plusieurs potentiels PRR végétaux reconnaissant les bactéries ont été identifiés, mais leurs agonistes spécifiques restent inconnus. Il s'agit notamment du récepteur RK-LRR du riz XA3/XA26 qui assure la résistance à la bactérie *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Sun et al. 2004), et du récepteur RLP-LRR ReMAX/RLP1 d'*Arabidopsis*, qui confère la reconnaissance de l'énigmatique MAMP bactérien eMax partiellement purifié de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Jehle et al. 2013) (Figure 2). Depuis ces dernières années plusieurs gènes agissant en aval de la signalisation de défense médiée par Xa3/Xa26 ont été rapportés. Par exemple, *OsDR8* ("Oryza sativa defense-responsive gene8"), codant pour une enzyme responsable de la synthèse de la thiamine, joue un rôle positif dans la voie de défense initiée par Xa3/Xa26 (Wang et al. 2006). Les facteurs de transcription WRKY13 et WRKY45-2 sont aussi positivement impliqués dans la résistance médiée par Xa3/Xa26 en réprimant ou en activant l'expression d'autres gènes (Qiu et al. 2007; Tao et al. 2009; Xiao et al. 2013; Cheng et al. 2015). C3H12, codant pour une protéine se liant aux acides nucléiques, ainsi que *OsSERK2* ("Oryza sativa somatic embryogenesis receptor kinase2"), codant pour une kinase de type XA3/XA26, sont également nécessaires à la résistance médiée par Xa3/Xa26 (Deng et al. 2012b; Chen et al. 2014). Le gène *OsDR10*, quant à lui, influence négativement la résistance médiée par Xa3/Xa26 (Xiao et al. 2009).

- Perception des champignons et des virus

La chitine, constituant majeur de la paroi cellulaire des champignons, est reconnue par le récepteur RK-LysM CEBiP, initialement identifié chez le riz. Cette interaction induit l'homodimérisation du récepteur RK-LysM, et la formation d'un hétéro-complexe avec OsCERK1 (l'orthologue chez le riz de AtCERK1) (Shimizu et al. 2010; Hayafune et al. 2014). Chez le riz, les récepteurs RLP-LysM OsLYP4 et OsLYP6 sont autant impliqués dans la perception des PGN que de la chitine (Liu et al. 2012a).

Bien que les concepts d'immunité antivirale aient été initialement exclus du modèle en zigzag, des études récentes ont soulevé un thème commun dans les interactions plantes-virus. Les plantes peuvent également utiliser la PTI classique pour lutter contre les infections virales, de la même manière que pour les agents pathogènes non viraux (Kørner et al. 2013; Iriti and Varoni 2014; Niehl et al. 2016; Nicaise and Candresse 2017). L'immunité antivirale des plantes a été conceptuellement considérée comme du "silencing RNA", dans laquelle les ARN doubles brins viraux sont considérés comme des PAMP qui activent les protéines Dicers en tant que PRR; l'action des protéines Dicers

pouvant être supprimée par les effecteurs viraux (Moon and Park 2016; Calil and Fontes 2017). Plus récemment, de multiples études ont mis en évidence que l'arsenal de défense des plantes contre les virus impliquait des PRR transmembranaires comme dans la PTI classique (Yang et al. 2010; Liu et al. 2011a; Kørner et al. 2013; Zvereva et al. 2016; Nicaise and Candresse 2017; Kong et al. 2018).

- Perception des DAMP

En 2006, le peptide AtPep1 fut identifié comme un des DAMP déclenchant une réaction immunitaire chez *A. thaliana*. AtPep1 est un peptide de 23 aa qui dérive d'une molécule précurseur de 92 aa, nommée PROPEP1, appartenant à une famille multigénique qui code pour les propeptides PROPEP. L'expression de PROPEP1 est induite suite à une blessure, en réaction au méthyle jasmonate et à l'éthylène (Huffaker et al. 2006). AtPep1 est reconnu par deux récepteurs RK-LRR nommés PEPR1 et PEPR2 (Yamaguchi et al. 2006, 2010; Krol et al. 2010), ce qui entraîne l'activation de la transcription du gène de défense PDF1.2 appelé "defensin" et la synthèse d'H₂O₂, qui sont tous deux des composants de la réponse immunitaire innée (Huffaker et al. 2006).

Outre AtPep1, d'autres DAMP appartenant aux catégories des glucides, des lipides et des nucléotides peuvent être perçus par la plante comme molécule signal permettant d'induire le système immunitaire (Boutrot and Zipfel 2017).

- Dépôt de callose

La callose est un polymère de β -(1,3)-glucane amorphe et de poids moléculaire élevé. Outre son rôle dans la croissance et le développement normaux de la plante, il joue un rôle important dans la défense des plantes. Suite à la reconnaissance de PAMP, ou DAMP (Brown, Ian et al. 1998; Gómez-Gómez et al. 1999), une accumulation de callose est induite au site d'infection, au niveau des parois cellulaires. Appelées papilles, ces appositions de callose forment une barrière qui sert de matrice dans laquelle les composés antimicrobiens peuvent être déposés, ce qui permet de concentrer les défenses chimiques sur les sites cellulaires d'attaque. La chitine et le chitosan sont des exemples de PAMP puissants, provenant de parois cellulaires fongiques, induisant le dépôt de callose (Iriti and Faoro 2009).

ii. Les défenses spécifiques: Effector-Triggered Immunity "ETI"

- Définitions générales des acteurs de l'ETI

Le second niveau de résistance appelé ETI ("Effector-Triggered Immunity") décrit la reconnaissance par la plante de certaines protéines synthétisées par l'agent pathogène, appelées

effecteurs, qui sont délivrées dans la matrice extracellulaire ou dans la cellule végétale pour améliorer l'aptitude de l'agent pathogène en lui permettant d'outrepasser la PTI. Les plantes qui ne sont pas capables de détecter ces effecteurs sont sensibles à l'agent pathogène, ce qui donne lieu à une sensibilité déclenchée par les effecteurs (ETS, voir paragraphe 5). Au contraire, lorsque que les plantes peuvent reconnaître les effecteurs par le biais des protéines de résistance (protéines R) l'ETI se met en place (Bigeard et al. 2015). Ce mécanisme de reconnaissance repose sur le modèle d'interaction "**gène pour gène**" décrit par H.H. Flor (1955) de telle sorte que la résistance a lieu uniquement lorsque des plantes, contenant un gène de résistance *R* spécifique, sont infectées par une souche de l'agent pathogène portant le gène d'avirulence *Avr* correspondant (Tableau 1, (Flor 1971). En comparaison à la PTI, l'ETI est une réponse de défense amplifiée et accélérée qui se manifeste habituellement par une cascade de signalisation aboutissant à un "burst" oxydatif et qui se traduit par la mise en place de la réponse hypersensible ("Hypersensitive Response", ou HR) (Greenberg and Yao 2004; Jones and Dangl 2006). La HR permet le confinement du pathogène au site d'infection et ainsi d'éviter sa propagation (Dangl and Jones 2001; Jones and Dangl 2006).

- Les protéines R

Plusieurs classes de protéines R sont connus à ce jour chez les plantes, en outre, la catégorie des LRR extracellulaires (eLRR) qui comprend les protéines Cf de la tomate permettant la résistance au champignon pathogène *Cladosporium fulvum* qui provoque la maladie de la moisissure des feuilles de la tomate (*Solanum lycopersicum*) (Joosten and De Wit 1999; Rivas and Thomas 2005; Stergiopoulos and De Wit 2009). Les protéines de résistance Cf9, Cf4, Cf5 et Cf2 sont des protéines RLP qui perçoivent respectivement les effecteurs Avr9, Avr4, Avr5 et Avr2 (Thomas et al. 1998; Rivas and Thomas 2005). Il a longtemps été suggéré que les RLP, qui contrairement aux RLK ne possèdent pas de domaine de signalisation intracellulaire, nécessiteraient d'une interaction avec une protéine kinase pour initier la signalisation (Jones et al. 1994; Joosten and De Wit 1999; Liebrand et al. 2014). En 2015, Postma et ses collaborateurs ont démontré que le récepteur extracellulaire Cf4, en association avec la protéine RLK-LRR *SISOBIR1* ("SUPPRESSOR OF BIR1-1"), perçoit Avr4 au niveau de la membrane plasmique des cellules hôtes, induisant par la suite l'endocytose des deux récepteurs dépendamment de BAK1/SERK3 ("BRI1-ASSOCIATED KINASE 1" / "SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASE 3"). (Postma et al. 2016). De la même façon que Cf4, Cf9 nécessite la reconnaissance, directe ou indirecte, de Avr9 pour induire son internalisation via BAK1/SERK3. De plus, les deux RLP, Cf4 et Cf9, formeraient chacun un hétérodimère avec la protéine SERK1 lors de la perception de leur effecteur d'avirulence respectif (Postma et al. 2016).

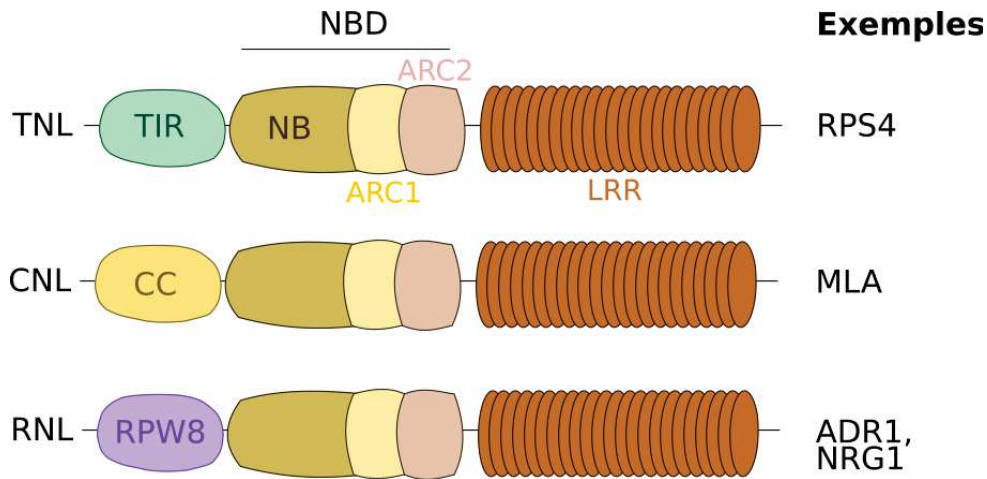
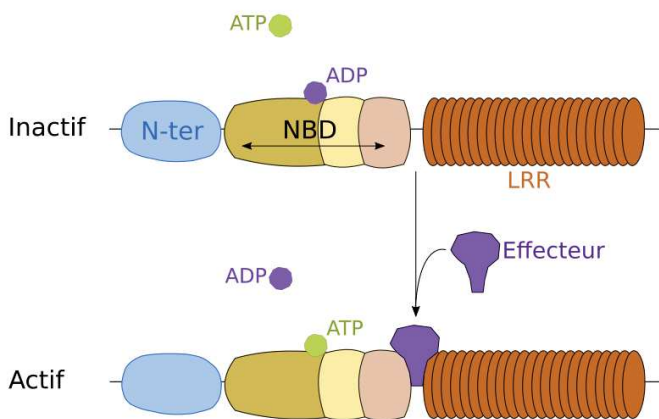


Figure 3 . Structures des récepteurs NB-LRRs chez les plantes.

Architectures des domaines de NB-LRRs de plantes classées en trois groupes contenant un domaine TIR, CC ou CC similaire à RPW8 fusionné aux domaines NBD et LRR. Le NBD peut être encore divisé en sous-domaines NB, ARC1 et ARC2. CC, coiled-coil; LRR, leucine-rich repeat; NBD, nucleotide-binding domain; RPW8, resistance to powdery mildew 8; TIR, Toll/interleukin-1 receptor/R protein. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

Echange ATP/ADP



Commutation d'équilibre

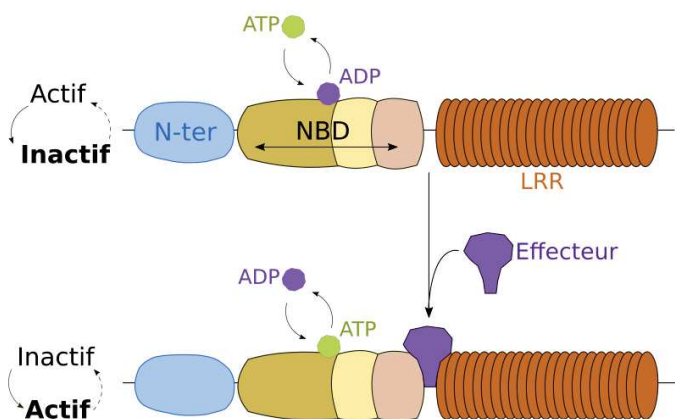


Figure 4. Deux modèles de liaison ATP/ADP des NB-LRRs chez les plantes.

Dans le modèle d'échange ATP/ADP, les NB-LRRs à l'état de repos sont liés à l'ADP. Lors de la détection d'un pathogène, l'ADP est libéré et l'ATP entre dans la poche de liaison pour induire et stabiliser les changements de conformation. Dans le modèle de commutation d'équilibre, les NB-LRR passent d'un état inactif lié à l'ADP à un état actif lié à l'ATP. La perception de l'effecteur pousse l'équilibre vers l'état lié à l'ATP, conduisant à l'activation des complexes NB-LRR. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

Par ailleurs, il existe une classe de gènes de résistance chez les plantes qui a évolué afin de piéger les effecteurs des agents pathogènes au niveau du promoteur des gènes de l'hôte; on les nomme gènes exécuteurs (**Cette catégorie de gènes sera détaillée plus bas, voir section V. 4. c**). Cependant, une grande partie des protéines clés de l'ETI appartiennent à une famille de récepteurs intracellulaires polymorphes nommés NB-LRR ("Nucleotide-Binding Leucine-Rich-Repeat") (Jones and Dangl 2006; Jacob et al. 2013).

- Les NB-LRR

S'élevant à plusieurs centaines dans chaque génome de plante, les gènes *NB-LRR* évoluent rapidement. Leur expansion et diversification sont sans doute dû aux forces évolutives imposées par la présence de pathogènes, évoluant eux-même très vite, afin d'obtenir de nouvelles capacités de reconnaissance (Adachi et al. 2019).

L'architecture des récepteurs NB-LRR se compose de trois domaines principaux (Figure 3) :

i) un **domaine N-terminal** qui permet de classer en trois différentes catégories les NB-LRR contenant soit des domaines "Toll-interleukine-1 receptor" (TIR), "Coiled-Coil" (CC), ou bien encore "resistance to powdery mildew 8" (RPW8) (pour revue dans (Duxbury et al. 2021). Les TIR-NB-LRR (ou TNL) sont présents uniquement chez les dicotylédones, tandis que les CC-NB-LRR (ou CNL) sont conservés à la fois chez les dicotylédones et les monocotylédones (Yue et al. 2012; Jacob et al. 2013).

ii) un **domaine central NBD** ("nucleotide binding domain") qui peut être divisé en trois sous-domaines conservés : les sous-domaines NB, ARC1 et ARC2 (Biezen and Jones 1998; Takken et al. 2006),

iii) un **domaine LRR** ("leucine-rich repeat") qui permet l'interaction protéine-protéine et à la fois la perception des ligands et la régulation de l'activité des NB-LRR (Takken and Goverse 2012).

Le domaine NBD des NB-LRR fait partie de la superfamille des ATPases et permet un changement de conformation de la protéine via l'échange d'une molécule d'ADP en ATP, ceci suite à la perception de l'effecteur. De nombreuses études démontrent que les NB-LRR liés à l'ADP sont dans un état inactif, et que les NB-LRR liés à l'ATP sont dans un état actif (Figure 4, (Tameling et al. 2006; Williams et al. 2011; Slootweg et al. 2013; Wang et al. 2019a, b). Dans un modèle général d'activation des NB-LRR végétaux, les domaines TIR ou CC N-terminaux et LRR C-terminaux coopèrent pour inhiber stériquement le domaine NBD de l'échange ATP/ADP (Takken and Goverse

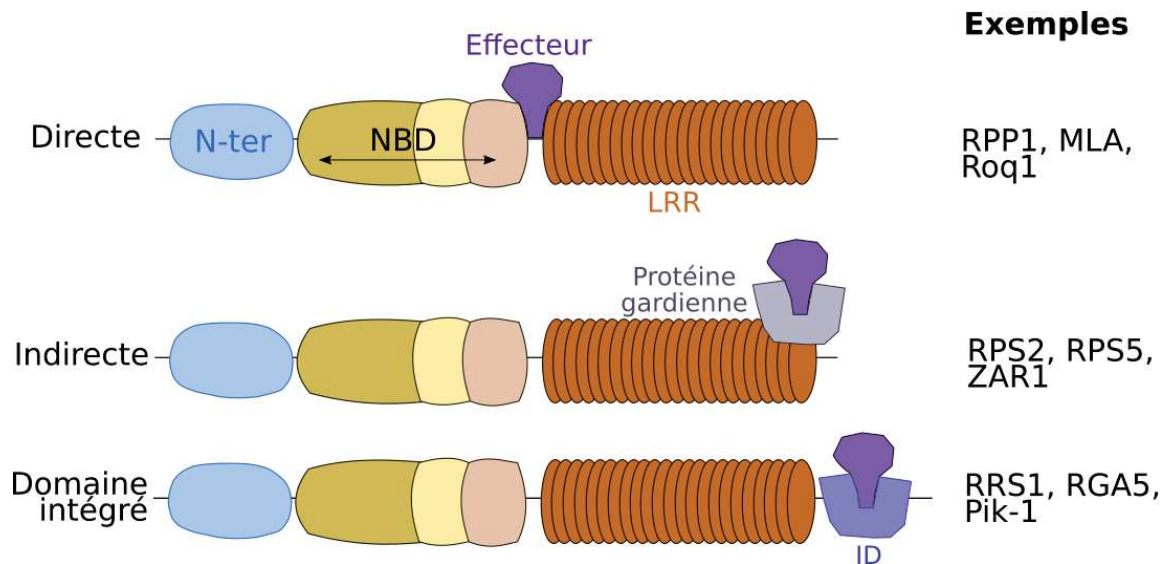


Figure 5. Trois modèles de reconnaissance des effecteurs par les NB-LRRs des plantes.

Certains NB-LRRs de plantes se lient directement aux protéines effectrices correspondantes ou détectent indirectement l'effecteur pathogène par l'intermédiaire des protéines gardées ou decoy. Certains NB-LRRs de plantes ont une identité non canonique pour médier la reconnaissance de l'effecteur. ID, integrated domain; LRR, leucine-rich repeat; N, N-terminal domain (CC, TIR ou RPW8); NBD, nucleotide-binding domain. Figure inspirée de (Duxbury et al. 2021).

2012; Griebel et al. 2014). Le domaine LRR fonctionne souvent comme une unité auto-inhibitrice qui régule l'activité des NB-LRR végétaux et animaux. Par exemple, les NB-LRR végétaux RPS5 ("Resistance to *Pseudomonas Syringae*5") et RPP1A ("Recognition to *Peronospora Parasitica*1A") deviennent tous deux constitutivement actifs lorsque leurs domaines LRR sont supprimés (Weaver et al. 2006; Qi et al. 2012). En outre, le domaine LRR peut également participer à la liaison directe des ligands au cours de la perception des pathogènes ; par exemple, le domaine LRR de RPP1 est nécessaire et suffisant pour immunoprécipiter son effecteur de reconnaissance ATR1 (Krasileva et al. 2010).

- Les différents modèles d'interactions protéine R/ protéine Avr

On distingue différents modèles décrivant au niveau moléculaire l'interaction protéine Avr - protéine R : i) le modèle ligand-récepteur où l'interaction entre la protéine R et la protéine Avr est directe, ii) les modèles où l'interaction est indirecte, tel que le modèle de garde, ou celui dit de leurre (ou "decoy"), et iii) le modèle de reconnaissance par le biais d'un domaine intégré (ID) où l'interaction avec l'effecteur s'effectue via la reconnaissance par un domaine fusionné au C-terminal du NB-LRR (Figure 5).

Reconnaissance directe:

Le mécanisme le plus simple et le plus intuitif par lequel les NB-LRR perçoivent les effecteurs est l'interaction directe. Par exemple, la série de NB-LRR alléliques Pik chez le riz confère une perception à de multiples effecteurs AVR-Pik dans *Magnaporthe oryzae* par liaison directe. Pikm peut reconnaître trois effecteurs AVR-Pik, tandis que Pikp ne peut en reconnaître qu'un seul. En étudiant les interactions entre Pik et les protéines AVR-Pik, les chercheurs ont pu utiliser l'ingénierie guidée par la structure pour créer un nouvel allèle de Pik qui se lie à un AVR-Pik non reconnu auparavant (De La Concepcion et al. 2019). D'autres exemples de NB-LRR de plantes détectant la présence d'effecteurs par interaction directe incluent le TNL RPP1 d'*Arabidopsis* se liant à l'effecteur ATR1 de *Hyaloperonospora arabidopsidis*, et le CNL Pi-ta du riz qui reconnaît par interaction directe l'effecteur fongique AVR-Pita de *M. oryzae* (Jia et al. 2000; Krasileva et al. 2010). Deux observations plus sophistiquées de reconnaissance directe ont été rapportées pour les complexes Roq1-XopQ et RPP1-ATR1, des TIR-NB-LRR et des effecteurs correspondant aux pathosystèmes *Nicotiana tabacum-Xanthomonas euvesicatoria* et *A. thaliana-Hyaloperonospora arabidopsidis* respectivement, dans lesquels plusieurs chaînes latérales exposées à la surface du domaine LRR et un connecteur allongé entre deux LRRs lient directement les effecteurs (Ma et al. 2020; Martin et al. 2020).

Reconnaissance indirecte:

i) Le modèle de garde : De nombreux NB-LRR de plantes n'interagissent pas directement avec les effecteurs auxquels ils confèrent une reconnaissance. L'hypothèse de garde décrit un modèle de reconnaissance des effecteurs via des interactions ligand-récepteur indirectes (Dangl and Jones 2001). Les NB-LRR de garde surveillent l'intégrité des cibles moléculaires des effecteurs et activent une réponse immunitaire lors de la reconnaissance récepteur-ligand. Chez *Arabidopsis*, la protéine RIN4 ("RPM1-interacting 4") est une protéine réceptrice qui interagit directement avec les NB-LRR de garde RPS2 ("Resistance to *P. syringae* 2") et RPM1 ("Resistance to *P. syringae* pv. *maculicola* 1"). De multiples effecteurs ciblent RIN4, notamment la protéase sécrétée AvrRpt2 de *P. syringae*, qui clive RIN4, conduisant à l'activation de la protéine R RPS2 qui déclenche le signal immunitaire (Axtell and Staskawicz 2003; Mackey et al. 2003). De plus, l'effecteur AvrRpm1 de *P. syringae* induit l'adénosine diphosphate(ADP)-ribosylation de RIN4, qui à son tour conduit à la phosphorylation de RIN4 par les kinases de l'hôte. Le changement de conformation de RIN4 conduit alors à l'activation de la protéine R RPM1, déclenchant ainsi une réaction immunitaire (Chung et al. 2011; Liu et al. 2011b; Redditt et al. 2019). Un autre exemple bien étudié d'un NB-LRR de garde est RPS5, qui surveille la protéine kinase PBS1 ("Arabidopsis AvrPphB Susceptible1"). Le clivage de PBS1 par la protéase effectrice AvrPphB active l'immunité médiée par RPS5 (Shao et al. 2003; Ade et al. 2007).

ii) Le modèle "decoy" : L'hypothèse du modèle de leurre ("decoy"), dérivée du modèle de garde, décrit un scénario selon lequel des protéines gardées par des NB-LRR sont ciblées par des effecteurs, mais ne jouent aucun rôle physiologique discernable dans l'immunité, si ce n'est celui de leurre dans la reconnaissance des effecteurs (Van Der Hoorn and Kamoun 2008). Un exemple de leurre classique est la pseudokinase ZED1 ("HopZ1 ETI deficient 1") qui est nécessaire à l'activation du CNL ZAR1 ("HopZ-activated resistance 1"). ZAR1 confère une reconnaissance indirecte à de multiples effecteurs, dont l'effecteur AvrAC de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* et l'effecteur HopZ1a de *P. syringae* (Lewis et al. 2013; Wang et al. 2015b; Seto et al. 2017; Schultink et al. 2019; Laflamme et al. 2020). AvrAC et HopZ1a respectivement, uridylyle et acétyle des récepteurs de type kinases cytoplasmiques ("Receptor-Like Cytoplasmic Kinase" ou RLCK) pour conférer la virulence (Feng et al. 2012; Lewis et al. 2013). AvrAC uridylyle la protéine RLCK PBL2, résultant en PBL2^{UMP}, qui interagit ensuite avec la protéine RLCK RKS1 ("pseudokinase resistance-related kinase 1") qui fait partie d'un complexe préformé avec ZAR1 (Wang et al. 2015b). L'hétérotrimère ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} s'assemble ensuite en une structure pentamérique en forme de roue appelée résistosome, composée de cinq protomères ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} (Wang et al. 2019a, b). HopZ1a, quant à lui, acétyle la pseudokinase ZED1, faisant partie

d'un autre complexe préformé avec ZAR1, pour déclencher l'assemblage d'un complexe d'ordre supérieur dans la plante, présumé être équivalent au résistosome ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} (Lewis et al. 2013; Hu et al. 2020). D'autres RLCK sont ciblées par HopZ1a et reconnues par le complexe ZAR1-ZED1, où ZED1 exerce une fonction d'adaptateur qui rappelle celle de RKS1 (Bastedo et al. 2019). L'uridylation de PBL2 n'augmente pas la virulence médiée par AvrAC, et ZED1 n'a pas d'activité kinase ; par conséquent, ces protéines hôtes sont considérées comme des leurres et non comme des récepteurs (Lewis et al. 2013; Wang et al. 2015b).

Reconnaissance par le biais d'un domaine intégré :

Certains NB-LRR contiennent des domaines non canonique, appelés domaines intégrés (ID), qui permettent la reconnaissance des effecteurs pathogènes correspondants. La perception des effecteurs se fait pour certains ID par interaction directe, pouvant entraîner dans certains cas une modification enzymatique du domaine intégré. Dans ces cas, la relation entre un ID et un NB-LRR rappelle celle d'un récepteur gardé par un NB-LRR correspondant. En effet, le lien génétique résultant de la fusion d'un ID avec un NB-LRR confère des avantages, c'est-à-dire que le brassage d'allèles qui entraînerait une perte de compatibilité entre une protéine gardée et son NB-LRR est beaucoup moins susceptible de se produire dans la configuration NB-LRR/ID. L'un des exemples de NB-LRR/ID les mieux étudiés est celui de la protéine RRS1 ("Resistance to *Ralstonia solanacearum* 1"), qui contient un domaine WRKY en C-terminal comme ID (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). Les domaines WRKY lient l'ADN, et de nombreux facteurs de transcription contenant des domaines WRKY ont été identifiés pour réguler les réponses immunitaires (Pandey and Somssich 2009). L'effecteur PopP2 de *R. solanacearum* est une acétyltransférase qui se lie et acétyle les facteurs de transcription WRKY, perturbant la liaison à l'ADN et favorisant la virulence (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). Cependant, au cours de l'infection de plantes exprimant RRS1, le domaine WRKY de RRS1 est acétylé par PopP2, et pour les allèles de résistance de RRS1 (RRS1-R), l'acétylation du domaine WRKY est suffisante pour activer une réponse immunitaire, en coopération avec sa paire NB-LRR RPS4 ("Resistance to *P. syringae* 4") (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015). RRS1 confère la reconnaissance à d'autres effecteurs, y compris l'effecteur AvrRps4 de *P. syringae*, qui se lie également au domaine WRKY de RRS1 (Sarris et al. 2015). D'autres NB-LRR/ID végétaux bien étudiés comprennent les NB-LRR RGA5 et Pik-1 du riz, qui contiennent des domaines intégrés associés aux métaux lourds (HMA) (Césari et al. 2014).

De récentes études ont montré que certains NB-LRR ont évolué pour fonctionner ensemble, formant à divers degrés des complexes génétiques ou biochimiques. Les NB-LRR peuvent donc fonctionner sous forme de paires, de réseaux fonctionnels, en plus de fonctionner sous la forme d'un singleton. Deux des exemples les plus étudiés de paires NB-LRR sont RPS4/RRS1 d'*Arabidopsis* et

RGA4/RGA5 (également connu sous le nom de Pia-1 et Pia-2) du riz. Dans le cas de RPS4/RRS1, RPS4 est surexprimé et constitutivement auto-actif; cette activation peut être supprimée quand RPS4 est co-exprimé avec RRS1. La perception des effecteurs AvrRps4 et PopP2 par le domaine WRKY de RRS1 initie une réponse immunitaire qui nécessite une interaction directe entre RRS1 et RPS4 (Le Roux et al. 2015; Sarris et al. 2015; Ma et al. 2018). Par conséquent, RRS1 fonctionne comme un NB-LRR capteur qui supprime l'auto-activité de l'exécuteur RPS4 en l'absence d'effecteurs, et active RPS4 en présence des protéines effectrices. La paire de NB-LRR RGA4/RGA5 détecte également deux protéines effectrices sans séquence apparentée, AVR-Pia et AVR1-CO39 de *M. oryzae*. Les deux effecteurs se lient au domaine HMA intégré dans RGA5 et ce qui active ensuite les réponses immunitaires par l'intermédiaire de RGA4 (Césari et al. 2013, 2014). Une intégration de domaine similaire a été trouvée dans une autre paire de NB-LRR du riz, Pik-1/Pik-2, dans laquelle le domaine HMA est intégré dans Pik-1 et est capable de lier la protéine effectrice AVR-Pik. La détection des allèles AVR-Pik par Pik-1 active les réponses immunitaires par l'intermédiaire de l'exécuteur apparié Pik-2 (Ashikawa et al. 2008; Maqbool et al. 2015). Il est intéressant de noter qu'une étude récente a révélé que 20 % des NB-LRR du génome du riz Tetep sont appariés (Wang et al. 2019c), ce qui suggère que le système NB-LRR apparié pourrait contribuer de manière significative à la résistance aux maladies de certains cultivars de riz.

3. Transduction du signal éliciteur

Il est important de noter que la PTI et de l'ETI diffère par le mode de reconnaissance du premier signal (MAMP ou ET3), par la puissance de la réponse, sa localisation, sa vitesse et la durée de sa mise en place. Toutefois une grande partie des voies de signalisation conduisant à leur mise en place respective sont partagées. Elles conduisent toutes deux à l'activation de diverses voies de transduction de signaux impliquant les MAPK ("mitogen-activated protein kinases"), les espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'acide salicylique (SA), l'acide jasmonique (JA), l'éthylène (ET), et d'autres phytohormones et molécules de signalisation. Ces phénomènes aboutissent à la production de composés antimicrobiens et de métabolites secondaires, à la modification de la structure cellulaire par le dépôt de callose et à la mort cellulaire programmée en réponse au stress (Pedley and Martin 2005; Meng and Zhang 2013).

a) L'influx de Ca²⁺

L'une des premières réponses physiologiques connues à la perception des MAMP/DAMP, relative à la PTI, est un afflux de Ca²⁺ extracellulaire dans le cytosol, qui se produit entre 30 sec et 2 min et atteint un pic vers 4-6 min (Jeworutzki et al. 2010; Ranf et al. 2011; Nomura et al. 2012). En plus de l'influx transitoire et rapide de Ca²⁺ dans le cytosol lors de la perception de MAMP, Nomura et ses

collaborateurs (2012) ont observé une deuxième augmentation de longue durée (de $t_0 + 8$ min à plus de $t_0 + 30$ min dans le cas du flg22) du niveau de Ca^{2+} libre dans le stroma du chloroplaste. La signalisation relative à la mise en place de l'ETI, a contrario, induit un influx de Ca^{2+} plus lent mais plus durable (Grant et al. 2000). Le Ca^{2+} est considéré comme un messager secondaire interagissant, en outre, avec diverses protéines médiatrices de la réponse immunitaire (Bigéard et al. 2015).

b) La production de ROS

Les ROS, qui jouent un rôle clé dans la défense et la signalisation, sont induits à la fois dans la PTI et l'ETI. Alors que la PTI induit une émission de ROS rapide et transitoire, appelée "burst oxydatif", l'ETI est associée à une émission de ROS biphasique, le second pic étant généralement beaucoup plus fort et plus durable que le premier (Chai and Doke 1987; Levine et al. 1994). Ainsi, 2-3 min après la perception des MAMP, une production extracellulaire de ROS survient et atteint son maximum vers 10-14 min (Chinchilla et al. 2007; Nühse et al. 2007; Ranf et al. 2011). Chez *Arabidopsis*, la NADPH oxydase localisée dans la membrane plasmique, appelée "respiratory burst oxidase homolog D" (RBOHD), est responsable de cette explosion de ROS induite par les MAMP (Zhang et al. 2007; Nühse et al. 2007; Ranf et al. 2011). De multiples protéines kinases associées à la PTI, y compris BIK1/PBL, CPK, SIK1 et CRK2, phosphorylent directement RBOHD pour déclencher la production extracellulaire de ROS dans *Arabidopsis* (Li et al. 2014; Kadota et al. 2014; Kimura et al. 2020; Lee et al. 2020). RBOHD joue également un rôle de médiateur dans la production de ROS au cours de l'ETI initiée par RPS2 et RPM1, et la phosphorylation de RBOHD aux résidus Ser³⁴³ et Ser³⁴⁷ est importante pour la production de ROS à la fois dans la PTI et l'ETI (Torres et al. 2002; Kadota et al. 2019; Yuan et al. 2021). Deux études récentes ont montré que le deuxième "burst oxydatif", pendant l'ETI, nécessite de manière surprenante la perception des MAMP par la plante (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021). Cela suggère que la deuxième phase de ROS associée à l'ETI dépend de la signalisation découlant des PRR. En outre, cette signalisation PRR-dépendante est nécessaire pour la phosphorylation maximale de RBOHD pendant l'ETI, tandis que la signalisation NB-LRR-dépendante (relative à l'ETI) régule à la hausse les niveaux de RBOHD (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021), ce qui souligne la double exigence de la signalisation PRR- et NB-LRR- dépendante pour assurer une production robuste de ROS pendant l'ETI.

c) Les MAP kinases

Outre la phosphorylation des complexes de récepteurs immunitaires mentionnée précédemment, qui se produit en quelques secondes, d'autres protéines kinases sont rapidement activées lors de la perception des MAMP. La majorité d'entre elles appartiennent aux familles de protéines kinases CDPK ("Ca²⁺-induced calcium-dependent protein kinases"), MAPK et AGC (Protein kinase A, G et

C) et sont considérées comme des éléments clés permettant la régulation d'un large spectre de cibles protéiques, telles que les facteurs de transcription, les enzymes métaboliques, les protéines de la membrane plasmique et les protéines du cytosquelette (Nühse et al. 2007; Rayapuram et al. 2014). Le génome d'*Arabidopsis* code pour 20 MAPK, 10 MAPKK (MAPK Kinases), et 60 MAPKKK (MAPKK Kinases) (Ichimura et al. 2002). Les MAPKKK, MAPKK, et MAPK constituent des modules de signalisation qui traduisent les stimuli extracellulaires en signaux intracellulaires, par la phosphorylation de protéines intermédiaires. Ces protéines ont été largement étudiées dans le contexte des interactions plantes-pathogènes (Meng and Zhang 2013). Chez *A. thaliana* lors d'un traitement par le peptide flg22 et d'autres MAMP, quatre MAPK (MPK3, MPK4, MPK6 et MPK11) sont activées dans les 1 à 2 min pour atteindre un pic d'activité à 10-15 min, qui diminue ensuite rapidement (Nühse et al. 2000; Zipfel et al. 2006; Bethke et al. 2012). L'activation de la signalisation NB-LRR-dépendante déclenche une activation des MAPK plus lente mais plus durable, comme pour l'influx de Ca^{2+} (Tsuda et al. 2013; Su et al. 2018). Alors que les kinases de la famille RLCK phosphorylent directement les MAPKK après la perception des MAMP au cours de la PTI (Yamada et al. 2016; Yan et al. 2018; Bi et al. 2018), la façon dont la cascade de MAPK est activée au cours de l'ETI reste à élucider. De manière intéressante, RRS1/RPS4 et RPP4 qui sont des TNL, ne peuvent pas déclencher l'activation de MAPK chez des lignées d'*Arabidopsis* transgéniques exprimant AvrRps4 ou AvrRpp4 en l'absence de signalisation PRR-dépendante (Ngou et al. 2020, 2021), ce qui suggère que la phosphorylation des MAPK associée aux TNL est dépendante de la voie de signalisation de la PTI. Cependant, l'activation de la cascade de MAPK par les CNL tels que RPS2, RPS5 et RPM1, semble être indépendante de la signalisation médiée par les PRR (Yuan et al. 2021), ce qui indique que les PRR et les CNL pourraient activer la cascade de MAPK par des mécanismes différents (Ngou et al. 2021; Yuan et al. 2021).

d) Les hormones végétales

Enfin, l'implication des phytohormones dans la régulation des réponses de défense aux stress biotiques des plantes ne peut être exclue. L'ETI et la PTI induisent des voies de signalisation spécifiques dans lesquelles trois phytohormones sont cruciales, à savoir l'acide salicylique (SA), le jasmonate (JA) et l'éthylène (ET). Les voies de régulation du SA sont le plus souvent induites par les agents pathogènes biotrophes et héli-biotrophes. De même, les voies de régulation du JA et de l'ET sont en général induites par les agents nécrotrophes et les ravageurs masticateurs (Bari and Jones 2009; De Vleeschauwer et al. 2014). D'autres phytohormones, comme l'acide abscissique (ABA), l'auxine (AIA), les gibbérellines (GA), les cytokinines (CK) et les brassinostéroïdes (BR), modulent l'immunité principalement par des interactions avec le SA et le JA. Les voies de signalisation médiées par ces phytohormones interagissent de manière antagoniste ou synergique.

Les interactions hormonales forment collectivement des réseaux de signalisation, qui interviennent dans l'immunité ainsi que dans la croissance et les réponses au stress abiotique de la plante (Pieterse et al. 2009). L'infection par un agent pathogène biotrophe provoque une accumulation accrue de SA chez les eudicotylédones comme *A. thaliana*, le fraisier, le poivron et la pomme de terre (Halim et al. 2007; Yang et al. 2011; Fu et al. 2011; Grellet-Bournonville et al. 2012; Kim and Hwang 2014), mais cela ne semble pas être le cas chez les monocotylédones. Cependant, des expériences montrent que l'application exogène de SA, ou de son analogue synthétique le benzothiadiazole (BTH), déclenche des réponses immunitaires et une résistance contre les pathogènes biotrophes et hémibiotrophes aussi bien chez les eudicotylédones que chez les monocotylédones (Yang et al. 2011; Grellet-Bournonville et al. 2012; Sugano et al. 2013; Ueno et al. 2015). L'application de JA déclenche l'immunité contre les pathogènes nécrotrophes chez *A. thaliana*, le riz et *Medicago truncatula* (Spoel et al. 2007; Taheri and Tarighi 2010; Gaige et al. 2010). En plus des pathogènes nécrotrophes, le JA est associé à la défense contre les herbivores chez de nombreux angiospermes, tels que *A. thaliana*, le maïs, le peuplier, *Picea sitchensis*, *Nicotiana attenuata* et *M. truncatula* (Howe and Jander 2008). L'ET, quant à lui, contribue positivement ou négativement à l'immunité selon l'agent pathogène, les conditions environnementales et l'espèce végétale. Par exemple, chez le soja, l'insensibilité à l'ET augmente la sévérité de la maladie causée par le champignon nécrotrophe *Rhizoctonia solani* (Hoffman et al. 1999), alors que l'expression accrue de l'enzyme ACS2, impliquée dans la voie de biosynthèse de l'ET, favorise la résistance contre *R. solani* chez le riz (Helliwell et al. 2013). Ainsi, comme cela a été signalé chez *A. thaliana*, les rôles positifs de l'ET dans la résistance aux nécrotrophes semblent répandus chez les angiospermes (Glazebrook 2005). L'ET contribue également à la résistance contre les pathogènes biotrophes et hémibiotrophes chez l'arabette, le soja, le tabac et le riz (Hoffman et al. 1999; Shibata et al. 2010; Helliwell et al. 2013; Tintor et al. 2013). Chez *A. thaliana*, la perception du peptide bactérien flg22 déclenche la production d'ET par l'augmentation de l'expression du gène ACS et la stabilisation de la protéine (Liu and Zhang 2004; Denoux et al. 2008). Cependant, il existe de nombreux exemples dans lesquels l'ET favorise la sensibilité aux maladies contre les biotrophes et les hémibiotrophes (Lund et al. 1998; Chen et al. 2009b, a; Shen et al. 2011; Liu et al. 2016). Cette dichotomie peut être expliquée par les interactions complexes entre la voie de signalisation de l'ET avec celles du SA et JA (Pieterse et al. 2009).

En plus des mécanismes de défense induits au site de l'infection, les plantes peuvent également activer des réponses immunitaires systémiques qui confèrent un état de résistance généralisé au niveau de la plante entière. Les mécanismes de signalisation de la défense systémique comprennent la résistance systémique induite ("Systemic Induced Resistance" ou SIR), qui est déclenchée en réponse à la colonisation des racines par des microbes bénéfiques (Van Wees et al. 2008), et la

résistance systémique acquise ("Systemic Acquired Resistance" ou SAR), qui est activée en réponse à une infection par un pathogène (Spoel and Dong 2012; Kachroo and Robin 2013; Gao et al. 2014). L'induction de la résistance systémique acquise implique la génération d'un ou de plusieurs signaux mobiles au site de l'infection primaire, qui se déplacent vers les tissus distaux et préparent la plante contre les infections futures. En 1993, il est découvert que le SA est un signal important dans l'induction de la SAR (Gaffney et al. 1993). Cette hormone stimule la voie SAR en favorisant l'expression des gènes *PR*, qui à leur tour rendent la plante tolérante contre une large gamme de pathogènes (Grant and Lamb 2006; Fu and Dong 2013; Ádám et al. 2018).

4. Contournement de la résistance (ETS)

Pour contourner les mécanismes de défense mis en place par les plantes, les agents pathogènes ont acquis la capacité à déjouer la PTI et/ou l'ETI via l'utilisation et la diversification de leurs effecteurs. Ces protéines permettent l'atténuation ou la suppression des réponses de défense primaires permettant ainsi la multiplication de l'agent pathogène, la colonisation des tissus de l'hôte et en conséquence le développement de la maladie. On parle d'ETS pour "Effector Triggered Susceptibility" ou Sensibilité médiée par les Effecteurs (Jones and Dangl 2006; Balmer et al. 2013). En 2020, Mondal et ses collaborateurs démontrent le rôle clés de trois effecteurs Xop ("Xanthomonas outer protein") dans la pathogénèse, permettant l'évitement de la PTI, de *X. axonopodis punicae* (*Xap*) chez le grenadier. En effet les effecteurs XopC2, XopL et XopN suppriment l'induction du dépôt de callose, la production de ROS au niveau du site d'infection, régulent négativement, directement ou indirectement, l'expression de certains gènes de défenses comme *FRK1*, *GST1*, *PR1*, *PR2*, *PR5* et *WRKY29* (Kumar et al. 2016; Mondal et al. 2020), favorisant la prolifération de *Xap* chez le grenadier.

Chez *X. euvesicatoria*, pathogène de la tomate, l'effecteur XopD joue plusieurs rôles dans la mise en place de l'ETS et le développement de la maladie. Kim et ses collaborateurs mettent en évidence l'implication de XopD dans l'altération des voies de signalisation du SA et de l'ET (Kim et al. 2008, 2013). XopD cause une réduction de l'expression des gènes associés aux réponses de défense, ainsi que de la production de SA. Il permet également la répression de la transcription des gènes induits par le SA et le JA, permettant la prolifération bactérienne, se traduisant par un retard du développement des symptômes dans les feuilles de tomates (Kim et al. 2008). Par ailleurs, XopD réprime directement la production d'ET et les défenses stimulées par l'ET en ciblant directement le facteur de transcription (TF) SIERF4 de la tomate. XopD colocalise avec SIERF4 dans les compartiments subnucléaires et effectue une désuoylation de la lysine 53 de SIERF4 causant sa déstabilisation et par conséquent une diminution du niveau de SIERF4 et une réduction de sa transcription (Kim et al. 2013).

En 2018, Medina et ses collaborateurs ont investigué le rôle des effecteurs Xop de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*), pathogène du manioc, dans la virulence et la modulation de l'immunité. Ils rapportent que parmi les 17 ET3 Xop de la souche *Xpm* CIO151, XopR, XopAO1 et AvrBs2 suppriment la PTI, mais que la suppression de l'ETI a seulement été observée par XopE4 et XopAO1. Grâce à l'expression hétérologue de XopR, XopAO1 et AvrBs2 dans *P. fluorescens* 55 (*Pf55*), et l'inoculation de ce dernier sur le tabac, ils démontrent que ces trois Xop provoquent une réduction du dépôt de callose (Medina et al. 2018). Toujours dans le même système hétérologue *Pf55*, les Xop de *Xpm* CIO151 sont testés pour voir leur capacité à réduire la HR provoquée par l'effecteur HopA1 de *Pf55* sur le tabac. Ces expériences montrent que deux d'entre eux, XopE4 et XopAO1 permettent respectivement de diminuer et d'abolir totalement la HR provoquée sur le tabac par HopA1. Chez le riz, le dépôt de callose et la production de ROS sont supprimés par l'effecteur XopR de *Xoo* (Verma et al. 2019).

II. Cartographie génétique et localisation de locus à effet quantitatif (QTL)

Une grande partie des résistances à *X. oryzae* pv. *oryzae*, ainsi qu'à d'autres pathogènes, ont été identifiées par cartographie génétique (Albar et al. 2003; Djedatin et al. 2016; Huerta et al. 2021). Cette méthode, basée sur le taux de recombinaison génétique entre plusieurs loci ou gènes, permet de déterminer la position relative de ces derniers sur un chromosome, ou à plus large échelle sur un génome entier. Son unité de distance est le centimorgan (cM)². Par ailleurs, plusieurs études ayant permis la détection de loci intervenant dans divers mécanismes tels que la résistance à la submersion, aux pathogènes ou encore la floraison, reposent sur la cartographie de locus à effet quantitatif (ou QTL, de l'anglais "Quantitative Trait Locus") (Hirabayashi et al. 2015; Raghavan et al. 2017; Ramakrishnan et al. 2019). Dans les paragraphes suivants sont rappelés brièvement les principes de cette méthode.

1. Généralités sur la cartographie génétique

En génétique un caractère phénotypique peut être gouverné par un ou plusieurs gènes, on parle alors de caractère mono ou polygénique, respectivement. Comme exemple de caractère monogénique connu, il existe celui exposé par Gregor Mendel chez le petit pois (*Pisum sativum* L.). La forme du grain du pois est gouvernée par une seule gène qui, en fonction de sa combinaison d'allèles, donne un pois lisse ou ridé. En ce qui concerne un caractère polygénique, son phénotype est le résultat de

² Rappelons que le cM est l'unité de distance utilisée en cartographie génétique. Elle vaut le centième du Morgan, qui lui-même correspond à la distance entre deux loci, nécessaire pour qu'il y ait en moyenne un "crossing over" entre ces loci par méiose. Pour des distances très faibles, le cM équivaut à une fréquence de recombinaison de 1%. Pour des distances plus élevées, il faut tenir compte des doubles recombinaisons non observées. On utilise alors une fonction de cartographie pour convertir les fréquences de recombinaison en cM, par exemple celles de Haldane ou de Kosambi (Haldane 1931, Kosambi 1944).

l'expression de plusieurs gènes, comme dit précédemment. Dans ce cas, chaque gène contribue en partie au phénotype final observé; on parle alors de loci/locus à effet quantitatif, ou QTL.

Depuis Mendel, et Morgan, on sait qu'il est possible de compter et localiser les facteurs, autrement dit les gènes, qui gouvernent des caractères monogéniques, à phénotypes discrets pouvant être catégorisés en deux ou trois modalités, par exemple les modalités "lisse" et "ridé" chez le pois. Ce sont les travaux pionniers de l'équipe de Morgan qui ont permis d'établir, dès 1913, la première carte de liaison génétique composée de six gènes chez la drosophile (Sturtevant 1913). Une carte de liaison génétique permet de représenter les positions relatives des gènes sur un même chromosome. L'ordre de ces gènes est alors déterminé en fonction de leur groupe de liaison, ce dernier représentant l'ensemble des gènes, loci ou marqueurs qui sont liés entre eux. Cette organisation repose sur une méthode simple basée sur la "force de la liaison" ("strength of linkage"), qui n'est autre que la fréquence de recombinaison.

Cette méthode ne permet pas, cependant, de localiser les facteurs de caractères polygéniques à variation continue, nommés caractères quantitatifs, qui ne peuvent se réduire en catégories. Dans une population issue d'un croisement, la distribution de tels caractères s'approchera d'autant plus d'une distribution normale, aussi appelée gaussienne, que le nombre de facteurs qui les composent est grand. C'est le modèle infinitésimal. En 1923, Sax a été le premier à présenter une méthode permettant d'associer un caractère qualitatif, ou facteur, à un caractère quantitatif, ou variable expliquée. Il montra ainsi que la couleur du grain du haricot commun, *Phaseolus vulgaris*, pouvait expliquer en partie la variation du poids du grain (Sax 1923). Évidemment, ce n'était pas la couleur du grain elle-même qui était liée physiologiquement au poids du grain, mais ce gène devait être lié génétiquement à un autre, qui fut découvert par la suite (Johnson et al. 1996).

2. La détection de QTL

Il s'avère que Sax avait eu un peu de chance, car la probabilité qu'un des rares gènes cartographiés à l'époque chez le haricot soit localisé suffisamment près du facteur réel qui influence le poids du grain était faible. D'autre part, il n'avait pas accès aux autres gènes qui pouvaient être liés aux autres facteurs du poids du grain. Aujourd'hui, cette contrainte est levée puisqu'on établit des cartes génétiques au moyen, non plus de gènes, mais de marqueurs moléculaires dont les premiers représentants furent les isoenzymes, puis des marqueurs directement basés sur les variations de l'ADN (Mackill et al. 1993). Les marqueurs moléculaires sont un type de marqueur génétique défini par une séquence d'ADN particulière utilisée pour baliser les chromosomes. Un marqueur moléculaire possède un emplacement physique identifiable (locus) sur un chromosome, ce qui permet de suivre la transmission d'un segment de chromosome d'une génération à l'autre. Les marqueurs sont utilisés en tant que première étape dans la recherche de la position et de l'identité

d'un gène. Largement utilisés en génétique humaine, végétale, animale et microbienne, ils permettent de montrer des variations (polymorphismes) de la séquence d'ADN entre deux individus. Comme exemple de marqueurs moléculaires on peut citer rapidement les RAPD ("Random Amplification of Polymorphic DNA"), les RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism"), les AFLP ("Amplified Fragment Length Polymorphism"), puis les microsatellites ou SSR ("Simple Sequence Repeat"), et les plus communément utilisés aujourd'hui, les SNP ("Single Nucleotide Polymorphism") (Dar et al. 2019). De par leur abondance, les marqueurs moléculaires présentent l'énorme avantage de pouvoir reconstituer une carte génétique qui couvre l'ensemble du génome, et ceci en analysant la descendance d'un seul croisement. Les SNP se comptent la plupart du temps par millions entre deux génomes d'une même espèce pris au hasard. Dans une étude de QTL moderne, on peut donc compter sur des marqueurs situés "très proche" de tous les facteurs génétiques qui composent le caractère quantitatif. De plus, on peut aussi évaluer la contribution relative, c'est-à-dire la part de variance du caractère expliquée par chacun de ces facteurs. Enfin, dans certains schémas de croisement, on peut estimer pour chacun des facteurs, la relation entre l'additivité et la dominance du locus considéré.

Contrairement aux analyses de type GWAS ("Genome-Wide Association Analysis"), basées sur l'étude des variations génétiques et phénotypiques chez de nombreux individus, la précision de la localisation des QTL dans des descendance issues de croisement peut s'avérer ne pas être très bonne en fonction de la taille de la population. Selon l'ampleur de l'effet d'un QTL sur le caractère, la taille de la population ou encore l'incertitude sur le phénotype, son intervalle de support ("support interval"), c'est-à-dire la taille de la région de haute probabilité de présence du QTL, varie. Ainsi, cet intervalle peut couvrir quelques centaines de kilobases à plusieurs mégabases. En revanche, cette méthode est très robuste, en ce sens qu'elle génère beaucoup moins de faux positifs que le GWAS. Cette approche peut être avantageusement complétée par une étude de cartographie fine, aussi appelée "fine mapping" en anglais, qui permet de localiser le QTL étudié très précisément. La cartographie fine permet d'analyser, dans la région identifiée, les variations génétiques particulières qui sont susceptibles d'influencer de manière causale le trait examiné.

Par la suite, si un génome annoté est disponible pour l'espèce étudiée, on peut alors projeter les bornes du nouvel intervalle de support, largement réduit grâce à la cartographie fine, sur ce génome et en extraire la liste des gènes présents dans cette région. L'annotation fonctionnelle de ces gènes permet ensuite d'identifier ceux qui sont les plus probablement impliqués dans le caractère; on parle de gènes candidats. Ces candidats pourront être testés par des analyses de complémentarité fonctionnelle, en introduisant un gène par transformation génétique, ou par des analyses d'inactivation de fonction, par exemple en créant des mutants dont les gènes candidats sont

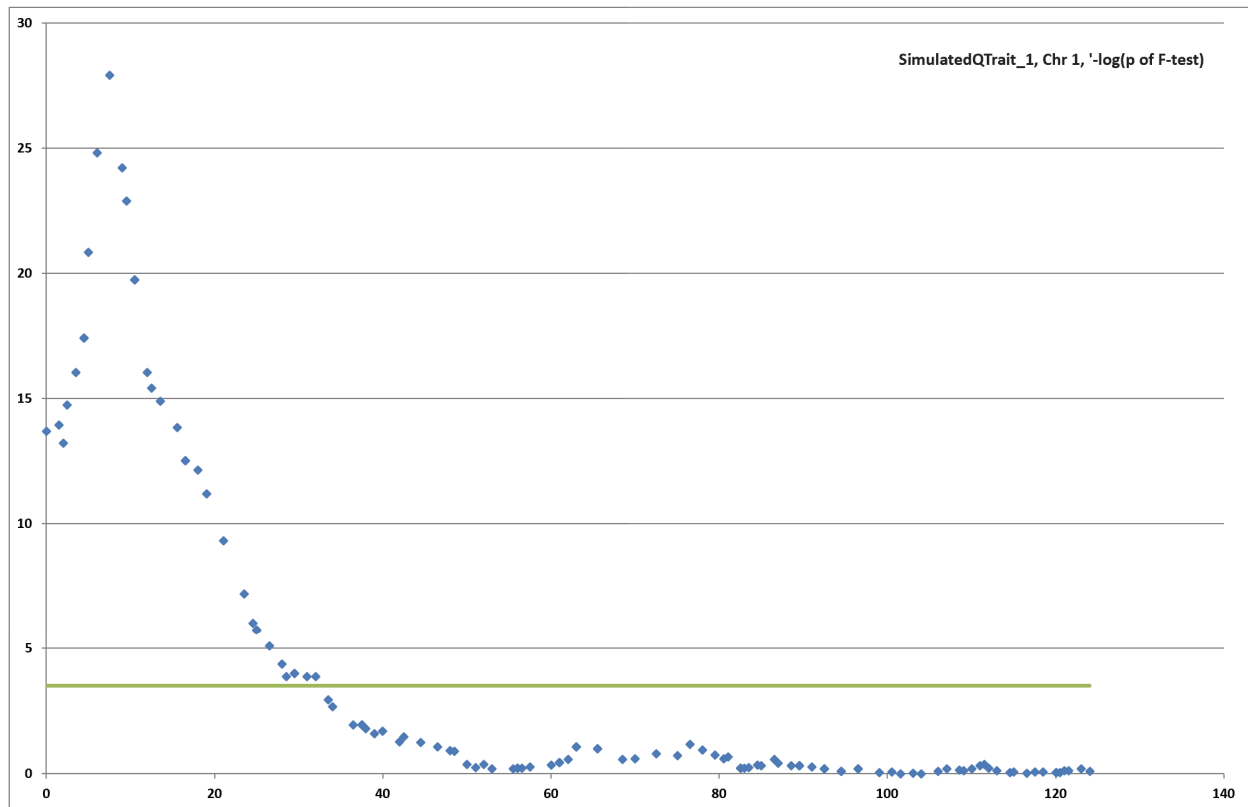


Figure 6. Analyse par "single marker regression" (SMR) d'un caractère hypothétique dans une population F_2 simulée de 100 individus.

L'axe des abscisses représente la position en centimorgans (cM) sur un chromosome, l'axe des ordonnées est la valeur $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F. Le QTL simulé est placé arbitrairement à la position 10 cM. Le chromosome simulé mesure 120 cM. Des marqueurs sont placés tous les 1 cM.

inactivés par réduction de leur expression ("knock down") ou bien par délétion ou mutation ciblée ("knock out"). Dans les deux cas, la validation fonctionnelle du candidat est obtenue si le phénotype du mutant ou du transformant est différent du phénotype sauvage. La porte est alors ouverte pour étudier plus précisément le rôle du gène validé, par des études d'expression/co-expression, de protéomique, etc.

3. Les modèles d'analyses

De très nombreux ouvrages et articles scientifiques ont été consacrés aux études de QTL, sur la partie théorique (les méthodes statistiques) et sur l'application à des organismes pour lesquels on peut effectuer des croisements (plantes, animaux, champignons) ou analyser des familles (Homme). Chez certaines plantes, les pérennes en particulier, les animaux, ou l'Homme, une étude de QTL nécessite souvent de combiner l'information de plusieurs familles, dont l'analyse requiert des modèles statistiques complexes. Chez d'autres plantes, souvent des annuelles comme le riz, on peut générer aisément des lignées pures, puis des descendance à grand effectif à partir d'un seul croisement, ce qui permet d'utiliser des modèles d'analyse bien plus simples mais tout aussi puissants.

Les premières méthodes de QTL étaient basées sur des modèles extrêmement simples (Soller et al. 1976; Edwards et al. 1987). Ces modèles testent l'effet sur le caractère de chaque marqueur pris individuellement ("Single Marker Regression", SMR). Il s'agit tout simplement d'un test F, dans lequel on compare les moyennes phénotypiques, en tenant compte des variances, des deux ou trois, selon le croisement, classes alléliques du marqueur. Si le test F est déclaré significatif, alors on sait que le marqueur est lié au QTL. Le seuil à retenir pour déclarer le test F significatif peut être calculé analytiquement ou empiriquement (permutations). On répète ce test pour tous les marqueurs, éventuellement ordonnés sur les groupes de liaison si on a pu construire la carte génétique. On peut alors construire un graphique où x est la position du marqueur et y est la valeur du test F, ou de $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F. Ce graphique permet de visualiser aisément les pics qui indiquent la présence la plus probable du QTL (Figure 6).

Comme, dans les années 1980, les cartes génétiques étaient construites à partir de marqueurs RFLP, onéreux et chronophages, les intervalles séparant les marqueurs les uns des autres étaient "grands", pouvant atteindre la trentaine de centimorgans. Si, par exemple un QTL est situé dans un intervalle de taille importante, on ne pourra donc pas connaître sa position précise. Lander et Botstein, en 1988, ont posé les fondements de la cartographie par intervalle ("Interval Mapping", ou SIM pour "Simple Interval Mapping"), qui permet d'estimer la position d'un QTL dans un intervalle en utilisant l'information des deux marqueurs qui le définissent (Lander and Botstein 1989). La

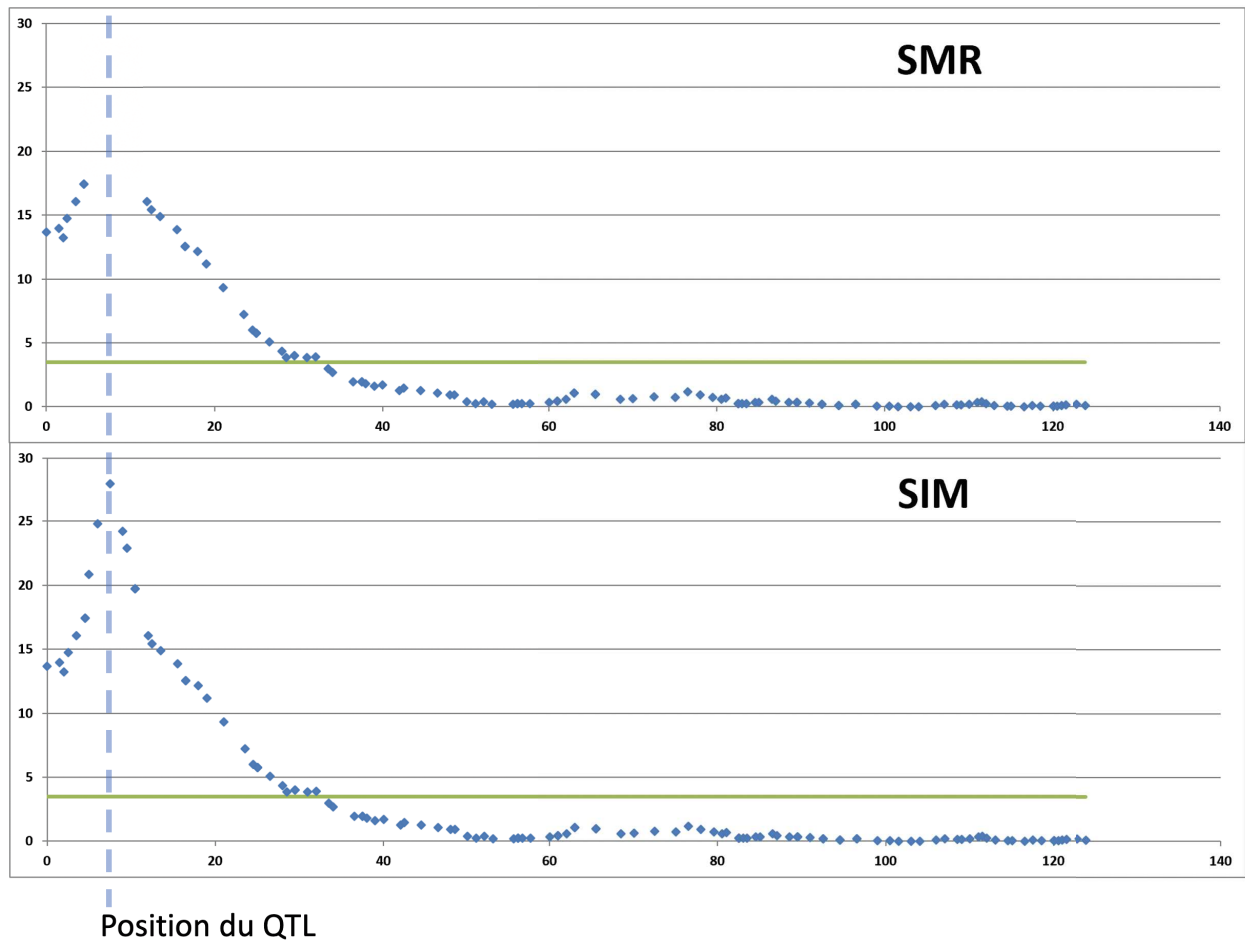


Figure 7. Avantage de l'analyse "simple interval mapping" (SIM) par rapport au SMR.

L'axe des abscisses représente la position en centimorgans (cM) sur un chromosome, l'axe des ordonnées est la valeur $-\log_{10}(p)$, où p est la p -value associée au test F (SMR), ou du LOD score (SIM). Les conditions de simulations sont identiques à la Figure 6, excepté que, pour l'analyse SMR, des marqueurs ont été supprimés afin de simuler un intervalle sans marqueurs. La méthode SIM permet de localiser le QTL exactement à la position simulée.

méthode est basée sur la méthode du LOD score, LOD signifiant "Logarithm of the Odds". C'est donc un rapport de vraisemblance, mais calculé avec des logarithmes en base 10. Ce LOD est donc le \log_{10} du rapport de vraisemblance de présence d'un QTL sur la vraisemblance d'absence de QTL. Il est calculé sur une maille de positions prédéfinies (des marqueurs virtuels), par exemple à chaque cM. Puisqu'on ne connaît l'état allélique des chromosomes qu'au niveau des positions des véritables marqueurs, il est nécessaire de l'inférer au niveau de tous les points de la maille. On calcule donc, en chaque marqueur virtuel la probabilité pour chaque individu d'être homozygote pour l'un ou l'autre allèle, ou hétérozygote. Cette probabilité est calculée en fonction de l'état des marqueurs bordants et du phénotype. Le LOD score est alors calculé à partir de ces probabilités et des valeurs phénotypiques. On peut, comme pour l'analyse SMR, représenter graphiquement ce LOD score en fonction de la position sur le chromosome. On voit clairement sur la Figure 7 l'avantage de l'interval mapping par rapport au SMR. Évidemment, l'intérêt de cette méthode est moindre aujourd'hui, puisqu'il devient rare que les cartes ne soient pas bien saturées de marqueurs. Enfin, de nombreuses améliorations ont été apportées à la méthode SIM. En particulier, une famille de méthodes basées sur la prise en compte du "bruit" généré par l'ensemble des facteurs génétiques sur un QTL donné : un QTL peut en effet être masqué partiellement ou totalement par l'effet d'autres QTL. Ces méthodes, dont font partis le "Composite Interval Mapping" (CIM, (Jansen and Stam 1994; Zeng 1994), l' "Inclusive Composite Interval Mapping" (ICIM, (Zhang et al. 2012), ou encore le "Multiple Interval Mapping" (MIM, (Kao et al. 1999), sont toutes basées sur la prise en compte de cofacteurs, qui ne sont autre que les QTL, à l'exception de la région sous analyse. Plusieurs approches sont utilisées pour la détection puis la prise en compte des cofacteurs ("forward", "backward", "stepwise"), ce qui aboutit parfois à des différences conséquentes quant aux QTL détectés et leurs effets.

III. Le riz

1. L'importance du riz dans le monde: une céréale majeure dans l'alimentation

Le riz, *Oryza* spp., est une culture céréalière qui constitue de nos jours la base de l'alimentation pour plus de la moitié de la population mondiale. L'augmentation continue de cette population engendre de nombreux défis pour la production de cette céréale.

En 2018, plus de 165 millions d'hectares étaient consacrés à la production de riz, et plus de 780 millions de tonnes de riz ont été produites dans le monde (Figure 8, FAO 2018). Cette année (2021) la Chine est, comme toujours, le plus grand pays producteur de riz au monde avec 211 090 813 de tonnes de volume de production par an. L'Inde arrive en deuxième position avec 158 756 871 de tonnes de production annuelle et la France avec 81 075 tonnes est classée à 80 (<https://www.atlasbig.com/fr-fr/pays-par-production-de-riz>). A l'heure actuelle les principaux

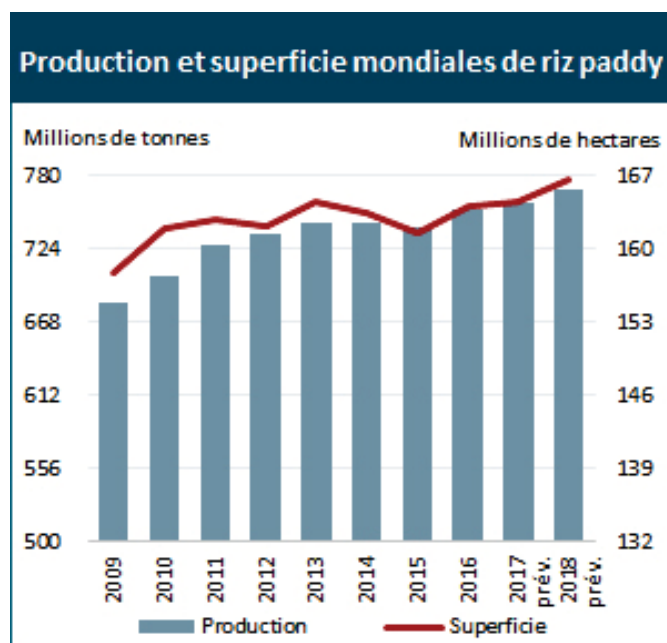


Figure 8. Production et superficie mondiales de riz paddy entre 2009 et 2018.

Suivi du marché du riz de la FAO, Avril 2018 (<http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/riz/fr/>)

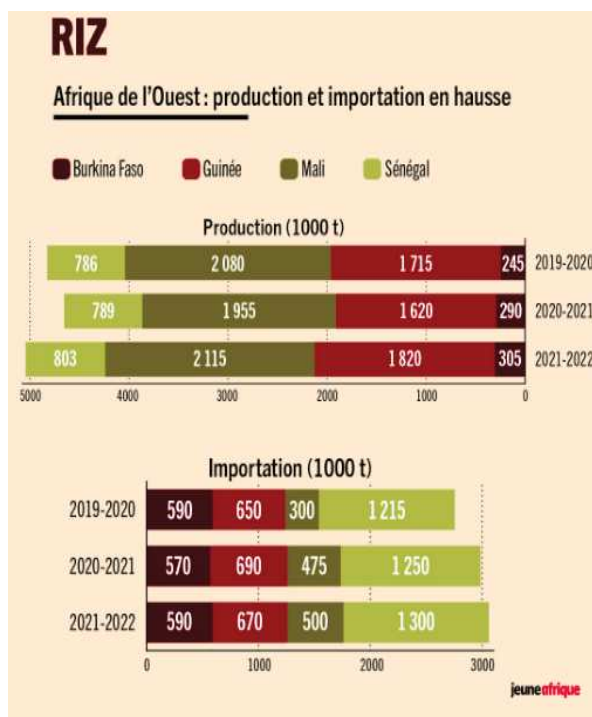


Figure 9. Production et importation du riz en Afrique de l'ouest.

source: <https://www.jeuneafrique.com/1211142/economie/riz-cacao-cafe-coton-lafrique-de-louest-face-a-la-flambee-des-cours/>

exportateurs de riz sont les États-Unis, l'Inde, le Pakistan, la Thaïlande et le Vietnam. La consommation mondiale de riz estimée pour 2020-2021 s'élève à 513 millions de tonnes, pour une consommation par habitant de près de 54 kg par an (FAO 2021). En Afrique de l'Ouest cette année la production de riz s'est vue diminuée, notamment en Guinée et au Mali, tandis que l'importation y était en hausse. Les prévisions pour l'année suivante prédisent cependant une nouvelle augmentation de la production et de l'importation du riz dans les divers pays d'Afrique de l'Ouest (Figure 9). Dans cette région de l'Afrique l'autosuffisance en riz est un sujet qui fait beaucoup parler ces dernières années. Bien que le Nigeria ait réduit de façon significative ses importations entre 2013 et 2019, il reste encore des efforts à faire en matière d'investissements pour amener son agriculture à produire suffisamment afin de parvenir à l'autosuffisance alimentaire. Côté Mali, une quasi-autonomie a réussi à être maintenue avec plus de 3 millions de tonnes de riz produites en 2018, selon la FAO. Concernant le Sénégal et la Côte d'Ivoire, depuis une dizaine d'années maintenant, une stratégie nationale portant sur la culture du riz a été adoptée, permettant de rééquilibrer le ratio importations/production nationale au Sénégal de 80%-20% à 55%-45% en 2018 (<https://www.jeuneafrique.com/mag/1033825/economie/nigeria-senegal-mali-quelles-strategies-pour-atteindre-lautosuffisance-alimentaire/>). Aujourd'hui, un grand nombre de menaces mettent en danger les cultures de riz causant de lourdes répercussions sur les rendements. Parmi elles, on retrouve différents stress biotiques (virus, bactéries, champignons, herbivores, insectes, ...), mais aussi une panoplie de stress abiotiques (sécheresse, inondation, pollution des sols en métaux, ...). Ces menaces représentent un enjeu majeur pour la sécurité alimentaire mondiale, il devient donc indispensable de combiner nos connaissances en science du végétale et en pratiques agricoles pour éviter ces énormes pertes de rendement.

2. Le genre *Oryza*

a) Généralités

Le riz, tel qu'on le connaît, est une monocotylédone de la famille des Poacées, principalement cultivée dans les zones tropicales, subtropicales et tempérées chaudes. Cette famille est divisée en deux clades, PACMAD (*Panicoideae*, *Aristidoideae*, *Chloridoideae*, *Micrairoideae*, *Arundinoideae* et *Danthonioideae*) et BOP (*Bambusoideae*, *Oryzoideae*, *Pooideae*), et comprend environ 12 000 espèces, dont des espèces cultivées telles que le sorgho, le maïs, le blé et le riz. La sous-famille des *Oryzoideae* se compose elle-même de quatre tribus (*Streptogyneae*, *Ehrharteae*, *Phyllorachideae*, *Zizaniinae* et *Oryzinae*) dont l'une d'elle, *Oryzinae*, héberge les genres *Oryza* et *Leersia*, très proches taxonomiquement (Soreng et al. 2015).

Le genre *Oryza*, auquel appartient le riz, comprend 27 espèces dont les deux seules cultivées à l'heure actuelle sont *O. glaberrima* et *O. sativa*, domestiquée respectivement en Afrique et en Asie.

Ces 27 espèces d'*Oryza* comprennent 11 types de génomes différents, dont six sont diploïdes ($n = 12$: AA, BB, CC, EE, FF et GG) et cinq sont polyploïdes ($n = 24$: BBCC, CCDD, HHJJ, HHKK et KKLL). Parmi ces espèces huit possèdent un génome AA : les espèces sauvages *O. longistaminata*, *O. meridionalis*, *O. glumaepatula*, *O. barthii*, *O. nivara* et *O. rufipogon*, et les deux espèces cultivées *O. glaberrima* et *O. sativa* (Stein et al. 2018). Même si des barrières d'hybridation sont présentes entre ces différentes espèces, il arrive que le croisement interspécifique soit possible si des conditions favorables sont réunies. Par conséquent, la diversité des espèces possédant le génome A procure une ressource génétique importante, que l'on peut exploiter pour l'amélioration variétale.

b) Caractéristique des deux espèces cultivées

- *Oryza glaberrima*

En Afrique de l'Ouest, le riz sauvage *O. barthii* a été domestiqué de manière indépendante, par rapport à *O. sativa*, pour devenir le riz cultivé *O. glaberrima* il y a environ 3 000 ans (Vaughan et al. 2008). Deux grandes hypothèses contradictoires ont été proposées concernant sa domestication en Afrique. La première hypothèse, émise par Porter en 1962, propose une domestication centrée, géographiquement localisée, le long du fleuve Niger, suivie de deux événements de diversification secondaire : l'un le long de la côte de ce qui est aujourd'hui le Sénégal et la Gambie, et l'autre dans les hautes terres de Guinée (Porter 1962). C'est ce qu'on a appelé le "modèle de transition rapide". L'autre hypothèse, émise par Harlan en 1976, propose que le riz africain et d'autres cultures telles que le sorgho et le millet perlé ont subi une domestication graduelle et parallèle dans différentes régions d'Afrique, géographiquement diffuse, non-centrée par opposition à la domestication centrée, et ont donc eu des origines multiples. Selon sa théorie, la domestication du riz africain a suivi un "modèle de transition prolongée" par opposition au "modèle de transition rapide" (Fuller 2007; Allaby et al. 2008; Meyer et al. 2016; Purugganan 2019).

O. glaberrima possède une diversité génétique moindre, en comparaison à *O. sativa*, dû notamment à deux goulots d'étranglement (Orjuela et al. 2014; Wang et al. 2014b). Le premier ayant eu lieu lors de la divergence des espèces asiatiques et africaines, et le deuxième lors du processus de domestication. On retrouve cependant des variations génétiques qui traduisent une diversité de morphologies adaptées à des conditions écologiques différentes, avec notamment des variétés flottantes et des variétés pluviales de plaine ou de montagne (Semon et al. 2005). D'une manière générale, *O. glaberrima* présente des grains de petite taille, en forme de poire, avec un son rouge et une enveloppe de graine d'une couleur allant de l'olive au noir, des panicules droites et simplement ramifiées, et des ligules courtes et arrondies, cependant certaines variétés d'*O. glaberrima* peuvent avoir des ligules pointues (Linares 2002). Dans l'ensemble, les rendements d'*O. glaberrima* sont

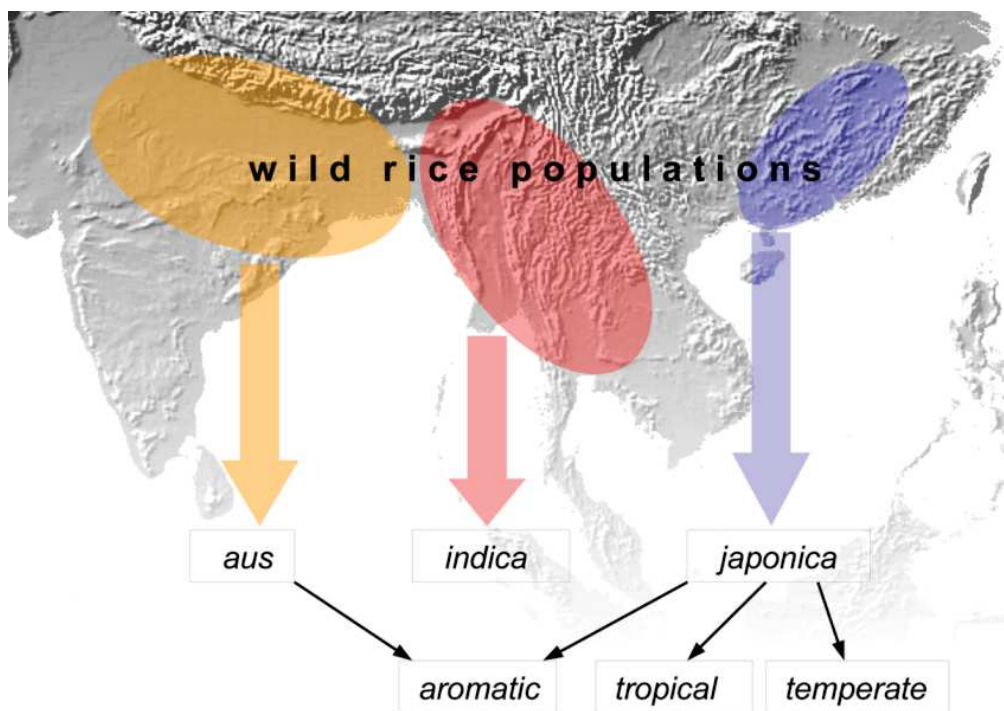


Figure 10. Schéma de l'origine du riz domestiqué d'après (Civan et al. 2015).

Les sous-espèces d'*Oryza sativa indica*, *japonica* et *aus* proviendraient de domestications dans des lieux différents (Sud-Est et Sud de l'Asie). Selon Civan et ses collaborateurs (2015) c'est l'hybridation ultérieure entre les sous-espèces *japonica* et *aus* qui aurait donné le riz *aromatic*, et les deux versions de *japonica* : tempérée et tropicale, seraient apparues plus tardivement.

plus faibles que ceux d'*O. sativa*, toutefois l'espèce *O. glaberrima* se fait remarquer par sa capacité d'adaptation à la sécheresse, à la toxicité en fer et aux sols infertiles, mais aussi par une meilleure résistance aux maladies et aux insectes ravageurs (Linares 2002; Albar et al. 2003). Aujourd'hui la culture d'*O. sativa* a remplacé quasiment la totalité des cultures d'*O. glaberrima* en Afrique, cependant cette dernière prospère dans un contexte plus traditionnel où elle est utilisée dans des offrandes rituelles pour honorer les ancêtres, plutôt que pour la consommation (Van Andel 2010).

- *Oryza sativa*

Le riz *O. sativa* provient de la domestication de l'espèce de riz sauvage *O. rufipogon* qui aurait eu lieu il y a environ 9 000 ans (Vaughan et al. 2008). Cependant, l'histoire de sa domestication est un domaine controversé (Gross and Zhao 2014). Selon Huang et ses collaborateurs (2012) le riz *O. sativa* ssp. *japonica* aurait été domestiqué pour la première fois à partir d'une population spécifique d'*O. rufipogon* autour de la zone centrale de la rivière des Perles dans le sud de la Chine, et le riz *O. sativa* ssp. *indica* aurait ensuite été développé à partir de croisements entre le riz *japonica* et le riz sauvage local lorsque les cultivars initiaux se sont répandus dans le sud-est et le sud de l'Asie. Comme la domestication est supposée s'être produite une fois dans une seule sous-population et s'être propagée aux autres sous-populations par hybridation, cette domestication est définie comme le modèle de domestication unique *de novo* avec introgression (Huang et al. 2012). D'un autre côté Civán et ses collaborateurs (2015) soutiennent que des domestications distinctes auraient donné les types de riz *indica*, *japonica* et *aus*, ces domestications ayant eu lieu dans différentes régions du sud-est et du sud de l'Asie. L'hybridation ultérieure entre le *japonica* et l'*aus* aurait donné le riz *aromatic*, et les versions "tempérée" et "tropicale" du *japonica* auraient évolué ultérieurement (Figure 10, (Civán et al. 2015).

O. sativa compte aujourd'hui cinq sous-populations (*indica*, *aus*, *aromatic*, *japonica tempérée* et *japonica tropicale*) (Garris et al. 2005). Cette espèce se caractérise par une pilosité des glumelles (absente chez *O. glaberrima*), des panicules retombantes avec des ramifications secondaires, et des ligules larges, cependant certaines variétés d'*O. sativa* ont également des grains en forme de poire avec un son rouge (Linares 2002). C'est aux alentours du 16^e siècle que les premières variétés de riz asiatiques ont été introduites sur le continent Africain par les navigateurs portugais (Sweeney and McCouch 2007). Depuis, les cultures de riz asiatiques ne cessent de prendre de l'envergure en Afrique de l'Ouest, et remplacent indéniablement la quasi-totalité des cultures de riz africains.

3. Les ressources génétiques et génomiques disponibles

Le riz est considéré comme une espèce modèle pour les céréales, à la fois car son génome est relativement petit et parce qu'il est étudié depuis très longtemps. La taille de son génome est de 400

à 430 millions de paires de bases (Mbp), bien plus petite que des céréales telles que le blé ou le maïs, mais trois fois celle d'*A. thaliana* (Arumuganathan and Earle 1991). Grâce à la relative conservation de l'agencement et de la composition des gènes entre les espèces, les travaux menés sur le génome modèle d'*O. sativa* bénéficient aux autres céréales cultivées, en particulier le blé et le maïs. De plus, outre le fait que le riz soit un modèle génomique, il possède aussi un intérêt agronomique mondial puisqu'il fait partie de l'alimentation de base de près de la moitié de la population mondiale.

a) Ressources génétiques

On estime qu'il existe plus de 140 000 variétés d'*O. sativa*, y compris des variétés primitives ("landraces") et des variétés améliorées (Jackson 1995), constituant une composante importante du patrimoine génétique du riz.

L'IRRI (International Rice Genebank) abrite le plus grand dépôt de diversité génétique du riz au monde, avec plus de 132 000 accessions de riz sauvages et cultivés provenant du monde entier (<http://irri.org/our-work/research/genetic-diversity/international-rice-genebank>), qui participent à l'amélioration des cultivars de riz.

Une partie des variétés d'*O. glaberrima* et *O. barthii*, provenant d'une collection de plus de 3 000 accessions, a été regroupée à l'IRD de Montpellier afin d'être analysée (Orjuela et al. 2014).

Jung et ses collaborateurs (2008), dans le but de caractériser la grande quantité de gènes de l'espèce *O. sativa* dont les fonctions sont encore inconnues, ont créé environ 500 000 lignées mutantes, le total combiné de cinq populations mutantes, possédant une à dix copies de mutations par lignée. Si les insertions étaient réparties uniformément dans le génome, on pourrait prévoir que cette collection de mutants cible 99 % des loci du riz (Jung et al. 2008).

Par ailleurs, les espèces sauvages de riz contiennent de nombreux traits agronomiques utiles mais une grande majorité de ces traits restent inexploités à ce jour car ils n'ont pas encore été tous identifiés, mais aussi car il est souvent difficile de les transférer dans le riz cultivé (*O. sativa* L.). Dans le but de détecter des gènes ou QTL d'intérêt et de les introduire dans les variétés cultivées, diverses lignées d'introgession et recombinantes ont été générées, représentant un matériel génétique puissant de détection :

- Les **NIL ("Near Isogenic Lines")** sont des lignées quasi-isogéniques qui sont souvent le produit de programmes de sélection végétale dont l'objectif est l'introgession d'un caractère ou d'un trait (gène) souhaitable d'un parent donneur. Les lignées quasi-isogéniques sont générées par un processus de rétro-croisement répété avec sélection du caractère souhaité à

chaque cycle de croisement. Par exemple les lignées de type IRBB sont obtenues à partir de rétro-croisements successifs entre des variétés donneuses portant des gènes de résistance à *X. oryzae* pv. *oryzae* (gènes *Xa*) d'intérêt et la variété récurrente universellement sensible IR24 (sous-espèce *indica*). Les IRBB ne se différencient d'IR24 que par la région qui porte le gène d'intérêt.

➤ Les **RIL ("Recombinant Inbred Lines")** sont des lignées consanguines produites par autofécondation, à partir d'individus F_2 dérivés du croisement entre deux lignées parentales. Le génome de chaque lignée est un réassortiment aléatoire des génomes des deux lignées parentales, en proportions statistiquement égales, fixé à l'état homozygote. Les inconvénients des RIL sont qu'il faut au moins six générations pour obtenir une lignée consanguine et, qu'il est impossible d'estimer les effets de dominance des loci à effet quantitatifs (QTL) cartographiés en raison de l'absence de génotypes hétérozygotes. Cependant, l'avantage des RIL est que, parce qu'elles ne sont composées que d'homozygotes, elles sont stables et peuvent donc être utilisées dans des expériences avec des réplifications dans plusieurs environnements, ce qui permet des estimations plus précises des composantes génétiques et l'identification des interactions entre les QTL et l'environnement. De plus, comme plusieurs cycles de méiose se produisent pendant le développement de ces lignées, il existe des possibilités de recombinaison entre des loci étroitement liés (Silva et al. 2007).

➤ Les **CSSL ("Chromosome Segment Substitution Lines")** sont une série de lignées d'introgression produites par le croisement et le rétro-croisement d'un parent donneur et d'un parent receveur. Chaque CSSL porte un ou plusieurs segments de chromosomes du parent donneur dans le fond génétique du parent récurrent, éliminant ainsi le bruit de fond génétique. L'ensemble des lignées couvre alors toute l'information du génome du parent donneur dans le fond génétique du parent receveur. L'utilisation des CSSL permet la détection de QTL avec des effets mineurs additifs qui sont toujours masqués dans les populations primaires F_2 ou RIL (Ali et al. 2010).

Dans le programme de croisement pour développer des lignées CSSL de riz, le parent récurrent, qui est généralement une espèce cultivée, est utilisé comme femelle, tandis que le parent donneur, généralement une espèce sauvage, est utilisé comme mâle afin d'éviter la stérilité cytoplasmique dans les générations suivantes (Ali et al. 2010). En plus d'être un outil efficace pour l'introgression de gènes d'espèces sauvages vers les espèces cultivées et le transfert ultérieur de gènes vers des cultivars commerciaux, les CSSL ont été utilisés pour

l'introgession de gènes d'une sous-espèce à l'autre, en particulier entre les groupes variétaux *indica* vers *japonica* et inversement.

- Les populations de type **BIL ("Backcross Inbred Lines")**, comme les CSSL, peuvent être utilisées pour introduire des gènes d'intérêt provenant d'espèces sauvages dans le fond génétique de riz cultivés. Les populations de type BIL ne sont pas développées avec le concept de couvrir le génome entier du donneur, contrairement aux populations CSSL qui sont fondamentalement conçues pour récupérer le génome entier du donneur. Les BIL sont caractérisées par une faible proportion de parent donneur dans chaque lignée et elles sont bien adaptées à la cartographie de la variation interspécifique. Comme chaque lignée ne porte qu'une petite fraction du génome de l'espèce sauvage, la plupart des problèmes de fertilité peuvent être éliminés et les traits associés au rendement peuvent être mesurés (Eshed and Zamir 1995). Le développement de BIL, comme celui de CSSL, implique le croisement de l'espèce sauvage contenant les gènes d'intérêt avec un parent cultivé. L'hybride F1 est rétro-croisé avec le parent cultivé et les plantes BC1F1 produites sont rétro-croisées avec le parent cultivé pour générer des plantes BC2F1, etc.
- Les populations de type **MAGIC ("Multi-parent Advanced Generation Inter-Cross")** sont générées en croisant n lignées pendant $n/2$ générations jusqu'à ce que toutes les variétés fondatrices soient combinées avec des proportions égales dans les croisements. Cette ressource puissante capture donc la diversité génétique de plusieurs variétés qui ont été recombinaisonnées sur plusieurs générations pour créer une population avec une grande diversité phénotypique idéale pour la cartographie à haute résolution de QTL d'intérêt. Ce type de population est souvent utilisée pour les études de génomique d'association, aussi appelées GWAS ("Genome-Wide Association Study"), permettant d'étudier un grand ensemble diversifié de génomes (Bandillo et al. 2013; Raghavan et al. 2017). Les populations de type MAGIC ont un double objectif : des populations de cartographie permanente pour la cartographie précise des QTL et une utilisation directe et indirecte dans le développement des variétés. Contrairement à un ensemble de germplasmés naturellement diversifiés, cette population est faite sur mesure pour les sélectionneurs avec une combinaison de traits utiles dérivés de multiples lignées de sélection d'élite. Les populations de type MAGIC offrent également la possibilité d'étudier les interactions entre les introgressions génomiques et la recombinaison chromosomique (Bandillo et al. 2013).

b) Ressources génomiques

- Séquençage de génomes de riz

En 1997, "the International Rice Genome Sequencing Project" (IRGSP), qui regroupe 11 nations, commence le séquençage du génome de la variété de riz *O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare, choisi comme modèle commun pour l'ensemble des pays de l'IRGSP. Ce séquençage est effectué, selon l'approche "clone-by-clone", aussi appelée "mapped clone sequencing strategy". Elle consiste au séquençage de longs fragments d'ADN principalement à partir de banques génomiques de BAC ("Bacterial Artificial Chromosomes") ou PAC ("P1-derivative Artificial Chromosomes"). Chaque séquence est rendue disponible sur des bases de données publiques, même si non annotée, comme "DNA Data Bank of Japan" (DDBJ), GenBank ou encore "the European Molecular Biology Laboratory" (EMBL) (Sasaki and Burr 2000).

En 2002, grâce à une même approche de "whole-genome shotgun sequencing", deux équipes séquencent respectivement le génome d'*O. sativa* L. ssp. *indica* 93-11 (Yu et al. 2002) et d'*O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare (Goff et al. 2002). Ces deux premières publications des séquences génomiques du riz ont ouvert la voie à tous les efforts futurs. Depuis, ces génomes ont été améliorés avec l'arrivée de nouvelles techniques de séquençage, comme par exemple le séquençage par Illumina (Kawahara et al. 2013) et PacBio (Zhang et al. 2018).

Au cours des années 2014 et 2015 les génomes de deux variétés d'*O. glaberrima* ainsi que ceux des espèces sauvages *O. barthii*, *O. nivara*, *O. meridionalis*, *O. punctata*, *O. rufipogon*, *O. glumaepatula* et *O. brachyanta* ont été mis à disposition sur la base de données Ensembl (<https://plants.ensembl.org/>) (Jacquemin et al. 2013; Cunningham et al. 2015; Kersey et al. 2016). Depuis avril 2022 cette plateforme regroupe 122 génomes de plantes.

En 2012, "the International Rice Genomics INitiative" (IRIGIN) coordonné par l'IRD, en collaboration avec le CIRAD, le CIAT (Colombie, centre du CGIAR) et l'AfricaRice (organisme panAfricain du CGIAR), le tout au sein du Mégaprogramme GRiSP (Global Rice Science Partnership, CGIAR) est mis en place. L'IRIGIN est la contribution française au programme de séquençage massif des riz, initié par l'IRRI ("International Rice Research Institut", Philippines, centre du CGIAR) et le BGI ("Beijin Genomic Institut", Chine) qui ont réalisé le séquençage de 3 000 variétés de riz asiatiques. L'IRIGIN est un programme qui vise à fournir un large éventail de ressources génomiques pour les riz africains cultivés et sauvages, ainsi que pour diverses lignées de riz asiatiques présentant un intérêt agronomique ou scientifique (<https://www.france-genomique.org/projet/irigin-international-rice-genome-initiative/>). Le séquençage de nombreux génomes de riz permet l'identification de plusieurs millions de SNP, qui peuvent être visualisés via diverses plateformes.

- Visualisation des SNP chez *O. sativa*

Plusieurs outils de visualisation des SNP dans les génomes du riz ont été mis en place afin de faciliter l'étude de cette céréale; ci-dessous une liste d'exemples des ressources disponibles.

Le projet OryzaSNP (www.OryzaSNP.org) a été lancé dans l'idée de découvrir les variations génétiques au sein de 20 variétés de riz (au départ), appartenant principalement aux sous-espèces *japonica* et *indica*. Ce projet a pour but de déterminer la variation en SNP présente au sein de 100 Mb de génome de riz, représentant environ 80% de portion non répétitives des 390 Mb du génome de référence Nipponbare. OryzaSNP a permis la découverte de 159 478 SNP non redondants répartis au sein des génomes présents dans le jeu de données OryzaSNP (McNally et al. 2009).

La base de données HapRice (<http://qtaro.abr.affrc.go.jp/index.html>) permet de visualiser la fréquence allélique de tous les SNP présents dans 76 accessions de la collection mondiale de riz (3 334 SNP) et dans 177 accessions de riz japonais (3 252 SNP). Au sein de cette base de données des outils web pour trouver des SNP polymorphes entre deux accessions de riz et pour concevoir des amorces afin de développer des marqueurs de séquences polymorphes à n'importe quel SNP, ont été développés (Yonemaru et al. 2014).

RiceVarMap ("Rice Variation Map", <http://ricevarmap.ncpgr.cn>) est une base de données des variations génomiques du riz. La base de données fournit des informations complètes sur 6 551 358 SNP et 1 214 627 insertions/délétions (InDel) identifiés à partir des données de séquençage de 1 479 accessions de riz. La base de données fournit également des détails géographiques et des images de phénotypes pour diverses accessions de riz. De plus, elle fournit des outils pour construire des réseaux d'haplotypes et concevoir des amorces PCR en tenant compte des variations génomiques connues environnantes. Ces données et outils sont très utiles pour explorer les variations génétiques et pour les études d'évolution du riz et d'autres espèces (Zhao et al. 2015).

- Bases de données regroupant l'accès aux ressources génétiques et génomiques du riz

Le projet OMAP (*Oryza* Map Alignment Project) a été mis en place par Wing et ses collaborateurs (2005) dans le but de libérer le potentiel génétique du riz sauvage. Pour cela les BAC/STC de 11 espèces de riz sauvage et du génome de référence *O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare ont été utilisés pour construire et aligner les cartes physiques de ces 12 génomes, afin de comparer leur organisation génomique. Les 11 espèces de riz sauvage comprennent 9 types de génomes différents et incluent 6 génomes diploïdes (AA, BB, CC, EE, FF et GG) et 4 génomes tétraploïdes (BBCC, CCDD, HHKK et HHJJ) avec une large distribution géographique et une adaptation écologique (Wing et al. 2005).

Gramene (<http://www.gramene.org>) est un portail unique permettant de trouver de la documentation, des ensembles de données génétiques et génomiques liés à des cartes, des

marqueurs, des gènes, des génomes et des loci à caractères quantitatifs, sur plusieurs graminées de la famille des Poacées (e.g. le riz, le maïs, le sorgho, le blé ou encore l'orge). Plusieurs outils sur Gramene facilitent le potentiel d'analyse comparative entre les graminées et contribuent à notre compréhension de l'anatomie, du développement, des réponses environnementales et des facteurs influençant la performance agronomique des cultures céréalières (Jaiswal et al. 2006).

OryGenesDB (<http://orygenesdb.cirad.fr/>) est une base de données dédiée à la génétique inverse du riz, sur laquelle des mutants d'insertion des gènes du riz y sont catalogués. Cette base de données contenait déjà 44 166 mutants en 2006 (Droc et al. 2006).

Oryzabase est une base de données contenant des informations sur le développement et l'anatomie du riz, les mutants du riz et les ressources génétiques, notamment pour les variétés sauvages de riz (Kurata and Yamazaki 2006).

Il existe aussi le "Rice Genome Annotation Project" (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) qui permet de visualiser les différents chromosomes des génomes de riz d'*O. sativa* ssp. *japonica* cv Nipponbare et d'*O. sativa* ssp. *indica* 93-11, ainsi que les gènes qui y sont annotés.

c) Amélioration variétale

Comme dit précédemment, *O. glaberrima* est aujourd'hui généralement cultivée en Afrique de l'Ouest, sur de petites surfaces, en raison de son rendement plus faible par rapport à *O. sativa*. Pourtant, elle est plus adaptée aux conditions de culture rustiques africaines que *O. sativa* (Linares 2002) et présente de multiples résistances et tolérances à différents stress biotiques comme abiotiques (Linares 2002; Albar et al. 2003). Ainsi, malgré son faible niveau supposé de diversité génétique, *O. glaberrima* est un outil très précieux pour l'amélioration de *O. sativa*, par le biais de l'hybridation interspécifique. Cependant, une forte barrière de stérilité, principalement dirigée par le locus S_I (Sano 1990; Garavito et al. 2010), existe entre ces deux espèces divergentes, ce qui complique l'utilisation d'*O. glaberrima* dans la sélection d'*O. sativa*. Néanmoins, il est possible d'obtenir des variétés hybrides fertiles par sauvetage d'embryons ou par fertilisation manuelle et rétro-croisement, comme cela a été fait pour la production des variétés NERICA (NEw RICE for Africa, (H. Gridley 2002). Les variétés NERICA sont devenues le premier succès à grande échelle du croisement des deux espèces cultivées. Il en existe deux types: les NERICA de plateau (upland) et les NERICA de bas-fond (lowland, NERICA-L), adaptés aux environnements pluviaux ou irrigués. Au total, il existe maintenant 82 variétés NERICA, 18 variétés de plateau, 60 variétés de bas-fond pluvial et 4 variétés irriguées. Les variétés NERICA pour les différentes écologies de riz constituent un bien public international important. En général, ces variétés ont une durée de croissance plus courte que les variétés existantes, ce qui permettrait aux cultures de riz d'échapper à la sécheresse qui a un impact négatif sur le rendement. Elles faciliteraient également la pratique de

systèmes de culture diversifiés en rotation avec les cultures de riz, tels que la culture de riz-légumineuse, la culture de riz de couverture et d'autres systèmes similaires, afin de maintenir la fertilité du sol et donc le rendement du riz pluvial (Nguyen VN 2003). Les premières variétés NERICA ont été homologuées en Côte d'Ivoire en 2000. Le développement des NERICA de plateau a valu à l'AfricaRice¹ plusieurs récompenses internationales, dont le Prix mondial de l'alimentation décerné en 2004 à Monty Jones (<https://www.africarice.org/nerica>).

Le germplasma des riz cultivés, comme dit précédemment, peut aussi être élargi par l'hybridation des cultivars avec des espèces sauvages, des variétés primitives ainsi que par des croisements intra-sous-spécifiques afin d'augmenter le potentiel de rendement du riz. Voici quelques exemples de croisements et/ou d'introgessions de gènes ayant permis l'amélioration du riz :

- Xiao et ses collaborateurs (1996) ont signalé que certains rétro-croisements, résultant d'un croisement entre une accession d'*O. rufipogon* de Malaisie (IRGC 105491) et une variété de riz cultivé (V20A), ont donné un rendement supérieur de 18 % au parent récurrent (Xiao et al. 1996).
- Les gènes *Bt*, provenant de la bactérie *Bacillus thuringiensis*, codant pour des toxines, ont été introduits dans le riz pour lutter contre le foreur jaune de la tige ("yellow stem borer"), un insecte très répandu en Asie (Datta et al. 1997). Xu et ses collaborateurs (1996) ont signalé que le riz transgénique portant le gène du niébé inhibiteur de la trypsine (*Cpti*) présentait une résistance accrue au foreur de la tige ("steam borer") et au foreur de la tige rose ("pink stem borer") (Xu et al. 1996).
- Des gènes de résistance à la pyriculariose et à la bactériose du riz ont été transférés d'une accession de riz sauvage d'*O. minuta* (Acc 101141) pour améliorer le germplasma du riz cultivé *O. sativa* (IR31917-45-3-2) (Brar and Khush 1997). Les gènes *ots A* et *ots B* de la biosynthèse du tréhalose, provenant d'*Escherichia coli*, ont été introduits dans le riz et les lignées de riz transgéniques avaient une tolérance accrue aux stress abiotiques tels que la sécheresse et la salinité (Garg et al. 2002).
- En 2003, Potrykus a rapporté le développement réussi d'un riz génétiquement modifié qui contient plus de provitamine A (communément appelé "riz doré"). En utilisant des techniques de transformation médiées par *Agrobacterium* il a transféré des gènes de jonquille (*Narcissus pseudonarcissus*) et de la bactérie *Erwinia uredovora* au riz (Potrykus

¹ AfricaRice, anciennement connu sous le nom d'Association pour le développement de la riziculture en Afrique de l'Ouest, est une association intergouvernementale panafricaine et une organisation de recherche du CGIAR, dont le siège est actuellement à Abidjan, en Côte d'Ivoire.

2003). De même, le gène de la ferritine du soja a été transféré dans le riz pour augmenter sa teneur en fer (Goto et al. 1999).

- Les plantes C4 telles que le maïs et le sorgho sont plus productives que le riz et le blé C3 car les plantes C4 sont 30 à 35% plus efficaces dans la photosynthèse. Depuis 2001, Matsuoka et ses collaborateurs essaient de modifier la photosynthèse du riz de la voie C3 à la voie C4 en introduisant des gènes clonés du maïs dans le riz. En cas de succès, le potentiel de rendement du riz pourrait augmenter de 30 à 35 % (Matsuoka et al. 2001).

4. Les menaces des cultures de riz

La croissance continue de la population, donc de la consommation, impose d'énormes demandes au niveau des ressources naturelles. Il devient nécessaire d'augmenter la production agricole pour répondre aux besoins alimentaires futurs (Godfray et al. 2010; Foley et al. 2011; Palmgren et al. 2015). Une solution pour augmenter la production alimentaire, sans augmenter la surface cultivée, et sans dégrader les terres, l'eau et la biodiversité, serait l'introgession dans les cultures de gènes de résistance connus pour lutter contre les stress biotiques et abiotiques auxquelles elles sont exposées.

a) Stress abiotiques

L'eau, de par sa trop grande présence ou son absence, constitue le principal facteur de menace des production. Bien que le riz soit considéré comme une culture tolérante aux inondations, seuls quelques cultivars présentent une tolérance à une submersion prolongée (Niroula et al. 2012), la plupart mourant dans les 14 jours suivant une submersion complète. D'un autre côté, la sécheresse cause aussi d'énormes dommages sur les plantes (Krannich et al. 2015), en particulier chez le riz, qui y est sensible car il est acclimaté à des champs soit pluviaux, soit entièrement irrigués. L'effet de la sécheresse peut varier en fonction des différents génotypes, des stades de développement, de la température et de la durée du stress (Wang et al. 2011). La **salinité** est aussi l'un des stress abiotiques les plus dévastateurs pour le riz, et les sols affectés par le sel représentent actuellement environ 20 % de la surface totale de plantation de riz paddy (Zhou et al. 2016). La salinité du sol a des effets négatifs sur la germination, la résistance aux maladies et le rendement des plantes (Munns and Tester 2008). Le **stress dû au froid** est l'un des principaux facteurs environnementaux limitant la croissance, la productivité et la distribution géographique des cultures, principalement dans les zones tempérées et de haute altitude, en raison de l'origine tropicale du riz cultivé (Cruz et al. 2013; Zhang et al. 2014). Les basses températures peuvent affecter la croissance et le développement des plants de riz à tous les stades de développement, de la germination au remplissage des grains. Les basses températures qui surviennent aux stades critiques de la reproduction peuvent nuire à la qualité des grains (maturation incomplète des grains) ou entraîner des baisses de rendement (Jena et

al. 2012; Cruz et al. 2013; Zhang et al. 2014). Les cultures de riz peuvent aussi être soumises à d'autres stress, tels que les fortes températures ou encore le manque de nutriments, que je ne décrirai pas ici.

b) Stress biotiques

Les plantes sont confrontées à de nombreux types de stress biotiques causés par différents organismes vivants comme les champignons, les bactéries, les nématodes, les insectes et les virus. Ces agents de stress biotique provoquent divers types de maladies, d'infections et de dommages aux plantes cultivées et affectent finalement la productivité des cultures.

Chez le riz la **pyriculariose**, causée par l'agent pathogène *Magnaporthe oryzae* appartenant à la division des Ascomycètes, est une des maladies du riz causant les plus grandes pertes de rendement. Ce champignon hémibiotrophe s'attaque aux parties aériennes de la plante et cause des symptômes foliaires en forme de losanges, grisâtre au centre et brun sur les bords. Ces lésions affectent la capacité photosynthétique de la plante et leur évolution entraîne le dessèchement et la mort des feuilles infectées (Liu et al. 2014).

Les **nématodes** se nourrissent des plantes et provoquent principalement des maladies transmises par le sol qui entraînent une carence en nutriments, un retard de croissance et un flétrissement (Lambert and Bekal 2002; Bernard et al. 2017; Osman et al. 2020). *Meloidogyne incognita* est un **nématode à galle** de la famille des Heteroderidae qui parasite les racines de riz et provoque de fortes pertes de rendement notamment au Brésil, au Bénin et au Vietnam. Au niveau du site d'infection, ce nématode induit la formation de cellules géantes au niveau desquelles il se nourrit et se reproduit (Bellafiore and Briggs 2010).

Concernant les **acariens** et les **insectes**, ces derniers altèrent les plantes en s'en nourrissant (en les perçant et en les suçant) ou en y pondant des œufs. Les insectes peuvent également être porteurs d'autres virus et bactéries. Par exemple la **cicadelle verte orientale du riz**, nommée *Nephotettix* spp., transmet la **maladie virale du tungro**. Le virus conduit à la décoloration des extrémités des feuilles, un tallage réduit, des plantes à la croissance ralentie et à la vigueur restreinte, et dans le pire des cas le flétrissement des plantes (Azzam and Chancellor 2002).

Par ailleurs, les **virus** et les **bactéries** sont également capables de dommages locaux et systémiques entraînant dans certains cas une chlorose et un rabougrissement pour l'un, et des nécroses foliaires pour l'autre (Niño-Liu et al. 2006; Pallas and García 2011). Le RYMV ("Rice Yellow Mottle Virus") est un virus à ARN appartenant au genre des sobémovirus qui cause la maladie de la **panachure jaune du riz** (Regenmortel et al. 2000). Le virus se transmet par voie mécanique et par le coléoptère *Sessilia pussila* (Hébrard et al. 1999). Les feuilles infectées présentent au départ des panachures jaunes qui à des stades plus avancés prennent une couleur orangée et entraînent un

dessèchement des tissus photosynthétique et la mort de la feuille. L'infection des parties végétatives entraîne un retard de croissance et affecte la formation des panicules (Thiemele et al. 2008). Parmi les maladies bactériennes du riz, l'espèce *Xanthomonas oryzae* ssp. fait partie des menaces majeures causant de grandes pertes de rendement. Au sein de cette espèce se retrouvent deux pathovars, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) et *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), causant respectivement la **bactériose à strie foliaire (BLS)** et la **bactériose vasculaire (BLB)** du riz. Cette dernière fait partie du top 10 des maladies bactériennes affectant les plantes (Mansfield et al. 2012), et sera détaillée dans le paragraphe VI. 1. b).

IV. Le genre *Xanthomonas*

1. Généralités

La première observation d'une bactérie du genre *Xanthomonas* fut rapportée en 1881 par Wakker, dans le cas de la maladie jaune des jacinthes ("yellows disease of hyacinths") (Starr 1981). De façon générale, le genre *Xanthomonas* comprend des bactéries à gram négatif, à la pigmentation jaune, qui interagissent avec les plantes. On dénombre environ 400 espèces de plantes pouvant être infectées par les bactéries du genre *Xanthomonas*, incluant une grande diversité de monocotylédones et de dicotylédones, dont de nombreuses cultures d'intérêt agronomique telles que le riz, le blé, la banane, la tomate, les agrumes, le coton ou encore le manioc (Jacques et al. 2016). Le genre *Xanthomonas* comprend environ 35 espèces et 80 pathovars. Au sein d'une espèce, les pathovars se distinguent par une gamme d'hôtes caractéristiques et/ou une spécificité de colonisation tissulaire (vasculaire ou parenchymatique). Par exemple, l'espèce *X. oryzae* infectant le riz comprend les deux pathovars *X. oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) et *X. oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*), qui envahissent le système vasculaire et les espaces intercellulaires du parenchyme respectivement (Niño-Liu et al. 2006).

2. Génomique et *Xanthomonas*

Les deux premiers génomes de *Xanthomonas* spp. ont été séquencés au début des années 2000 (da Silva et al. 2002). A l'heure actuelle, plus de 1 400 génomes de *Xanthomonas*, représentant toutes les espèces de *Xanthomonas* nommées, sont disponibles publiquement dans la base de données du "National Center for Biotechnology Information" (NCBI). Cette richesse de données génomiques a révolutionné notre compréhension de la taxonomie bactérienne et de l'évolution des pathogènes, ainsi que des facteurs contribuant à la virulence et à l'adaptation de l'hôte. La diversité des *Xanthomonas* peut être catégorisée à plusieurs niveaux, comprenant la **diversité génétique** au sein des populations et des espèces, et la **diversité fonctionnelle ou environnementale**, qui décrit leurs rôles dans les microbiomes des plantes.

- Diversité des populations et des espèces

Afin d'évaluer la diversité des populations, différentes méthodes ont été mises en place, allant de l'analyse de profil de RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism"), au séquençage du génome entier ("Whole Genome Sequencing", WGS), en passant par des approches de type MLVA ("Multiple Loci VNTR Analysis") et MLST ("MultiLocus Sequencing Typing"). L'analyse RFLP est une technique qui exploite les variations dans les séquences d'ADN homologues affectant les sites de reconnaissance des enzymes de restriction. L'analyse VNTR ("Variable Number Tandem Repeat") à loci multiples, ou MLVA, quant à elle, est une méthode d'analyse génétique qui exploite comme source de polymorphisme la variation du nombre de motifs de répétitions en tandem (micro ou minisatellites). Enfin, le typage par séquençage MLST, est une technique de référence qui permet de discriminer différentes souches en se basant sur le séquençage de "gènes de ménage" codant pour des protéines essentielles de la bactérie. Ces séquences ont la particularité de présenter un polymorphisme stable dans le temps et suffisant pour distinguer des souches entre elles. Ces diverses techniques permettent de garder un œil sur l'évolution des génomes à l'échelle d'une espèce, d'un pathovar, ou même encore d'une population entière.

Le contournement de gènes de résistance par une population bactérienne est un cas d'étude intéressant qui met en avant l'intérêt d'utiliser ces différents outils d'analyses pour traquer l'évolution des populations, et anticiper de futur contournement (Quibod et al. 2020). D'autre part, certains composants du génome tels que les séquences d'insertions, aussi appelées IS ("insertion sequences"), sont acteurs de la diversification des populations et des espèces. Les IS joueraient un rôle important dans l'instabilité du génome et la perte de fonction des gènes, comme le montre l'inactivité du gène *gumM*, qui intervient dans la production de xanthane, provoquée par une séquence d'insertion et qui a aboli la production de ce polysaccharide extracellulaire chez *X. oryzae* (Rajeshwari and Sonti 2000). En 2005, un total de 386 IS a été trouvé dans un seul génome de *X. oryzae*, indiquant une grande plasticité du génome de chaque souche (Ochiai et al. 2005). La comparaison du génome de la souche de *Xoo* PXO99^A avec ceux des souches de *Xoo* MAFF311018 (MAFF) et KACC10331 (KACC), ces deux dernières étant très similaires l'une à l'autre, a fourni des preuves directes que le génome de *Xoo* est très plastique et évolue rapidement (Salzberg et al. 2008). Le génome de PXO99^A code 19 effecteurs TAL et présente au moins 10 réarrangements chromosomiques majeurs par rapport aux souches KACC et MAFF, résultant en 29 blocs synténiques distincts. La plupart de ces réarrangements semblent être médiés par un ensemble d'éléments transposables.

La diversité intraspécifique et la spécialisation de l'hôte sont apparentes chez *X. citri* pv. *citri* (*Xci*), qui présente trois pathotypes : A, A* et A^w. Ces trois pathotypes ont une gamme d'hôtes variable : le

pathotype A a une large gamme d'hôtes, tandis que le pathotype A* n'infecte que *Citrus aurantifolia*, *C. latifolia* et *C. macrophylla*, et le pathotype A^w affecte *C. aurantifolia* et *C. macrophylla* (Escalon et al. 2013). Gordon et ses collègues (2015) ont réalisé une analyse de génomique comparative sur 43 souches de *Xci* qui n'a révélé qu'une variation extrêmement faible du contenu génétique; la plupart du contenu génétique variant était lié aux îlots génétiques et aux régions de recombinaison. Ces résultats indiquent le rôle joué par le transfert horizontal de gènes et la recombinaison pour l'évolution du contenu génétique de ces pathotypes en termes de gain et de perte de contenu génétique et de mutations (Gordon et al. 2015). Le gène *avrGf1* et son homologue *avrGf2* agissent comme un facteur de restriction de la gamme d'hôtes dans le pathotype A^w mais la délétion du gène *avrGf1* ne donne pas une gamme d'hôtes de type A à ce pathotype. Ceci indique que la présence ou l'absence d'autres facteurs est nécessaire pour expliquer la gamme d'hôtes de ces pathotypes.

- Génomique environnementale

L'analyse de génomique comparative des souches de *Xanthomonas* pathogènes et non pathogènes, qui coexistent dans la même plante hôte, peut donner plus d'informations sur les adaptations génomiques d'une souche non pathogène à un environnement particulier. Par exemple, une analyse du pangénome de souches de *Xanthomonas*, isolées de grains de riz sains, a permis d'identifier un certain nombre de gènes uniques qui sont partagés par *X. maliensis*, précédemment signalé comme ayant un mode de vie non pathogène, et les *Xanthomonas* pathogènes du riz (*X. oryzae*, (Triplett et al. 2015). Même si *X. maliensis* n'a pas de système de sécrétion de type 3 (SST3) et ses effecteurs associés qui sont retrouvés chez les *Xanthomonas* pathogènes, il porte des gènes codant d'autres systèmes de sécrétion, tels que le SST1, SST4 et SST6, indiquant certaines caractéristiques similaires aux *Xanthomonas* pathogènes. Par conséquent, *X. maliensis* est phylogénétiquement plus proche des isolats pathogènes que des isolats non pathogènes, tel que certaines souches de *X. arboricola* ou *X. cannabis* ne portant que 4 gènes régulateurs associés aux SST3, et les orthologues de 6 ET3, contre 24 orthologues trouvés dans les souches pathogènes (Jacobs et al. 2015; Garita-Cambronero et al. 2017). Ces observations suggèrent que *X. maliensis* est un intermédiaire possible dans l'évolution des souches pathogènes à partir des souches non pathogènes par l'acquisition de gènes qui sont habituellement présents dans les isolats pathogènes (Triplett et al. 2015).

3. Les déterminants du pouvoir pathogène

a) Les structures de surface des bactéries

Parmi les déterminants du pouvoir pathogène se retrouvent en première ligne, les structures de surface des bactéries telles que les exopolysaccharides (EPS), les lipopolysaccharides (LPS) et les adhésines (Figure 11).

Un des **exopolysaccharides caractéristiques** des *Xanthomonas* est le **xanthane**, qui donne cet aspect mucoïde aux colonies bactériennes. La production de xanthane est dirigée par plusieurs loci génétiques, y compris le groupe de gènes *gum*, qui consiste en 12 gènes (*gumB* à *gumM*) et est hautement conservé parmi les bactéries du genre *Xanthomonas* (Katzen et al. 1998; Vojnov et al. 1998). En raison de sa consistance hautement hydratée et anionique, le xanthane protège les bactéries des stress environnementaux (e.g. la déshydratation, les composés toxiques). Il a été démontré que les gènes *gum* de plusieurs *Xanthomonas* contribuent à la survie épiphytique et/ou à la croissance bactérienne *in planta* et à la formation de symptômes (Chou et al. 1997; Katzen et al. 1998; Dharmapuri and Sonti 1999; Kemp et al. 2004; Dunger et al. 2007; Rigano et al. 2007; Kim et al. 2009). Il est aussi intéressant de noter que la contribution du xanthane à la virulence peut dépendre de la plante hôte et des conditions environnementales (Dunger et al. 2007; Rigano et al. 2007). Des preuves expérimentales démontrent que le xanthane supprime également les réponses de défense basale des plantes telles que le dépôt de callose dans la paroi cellulaire de la plante (Yun et al. 2006; Aslam et al. 2008) et qu'il serait impliqué dans la formation de biofilms (Dow et al. 2003; Torres et al. 2007; Rigano et al. 2007). Ce biofilm servirait de protection contre les antibiotiques et les réponses de défense de l'hôte et pourrait contribuer à la survie épiphytique des bactéries avant que ces dernières colonisent l'espace intercellulaire des plantes (Stoodley et al. 2002).

Un autre facteur de virulence associé à la survie de *Xanthomonas* et d'autres bactéries phytopathogènes sont les **lipopolysaccharides (LPS)**, qui sont des composants majeurs de la membrane externe bactérienne et protègent la cellule des environnements hostiles. Chez *X. campestris* pv. *campestris* (*Xcc*), la synthèse du LPS est dirigée par le groupe de gènes *wxc*, qui comprend 15 gènes (Vorhölter et al. 2001). Une analyse comparative des séquences a révélé que les groupes de gènes LPS de différentes espèces de *Xanthomonas* varient en nombre et en identité de gènes et ont probablement été soumis à une forte sélection de diversification (génération de multiples allèles différents dans différentes espèces, pathovars et aussi différentes souches) (Lu et al. 2008). Des variations dans la composition des LPS pourraient permettre aux bactéries d'échapper à la reconnaissance par le système immunitaire de la plante et affecter probablement aussi la résistance bactérienne à l'adsorption et/ou à l'infection par les phages (Ojanen et al. 1993; Hung et al. 2002).

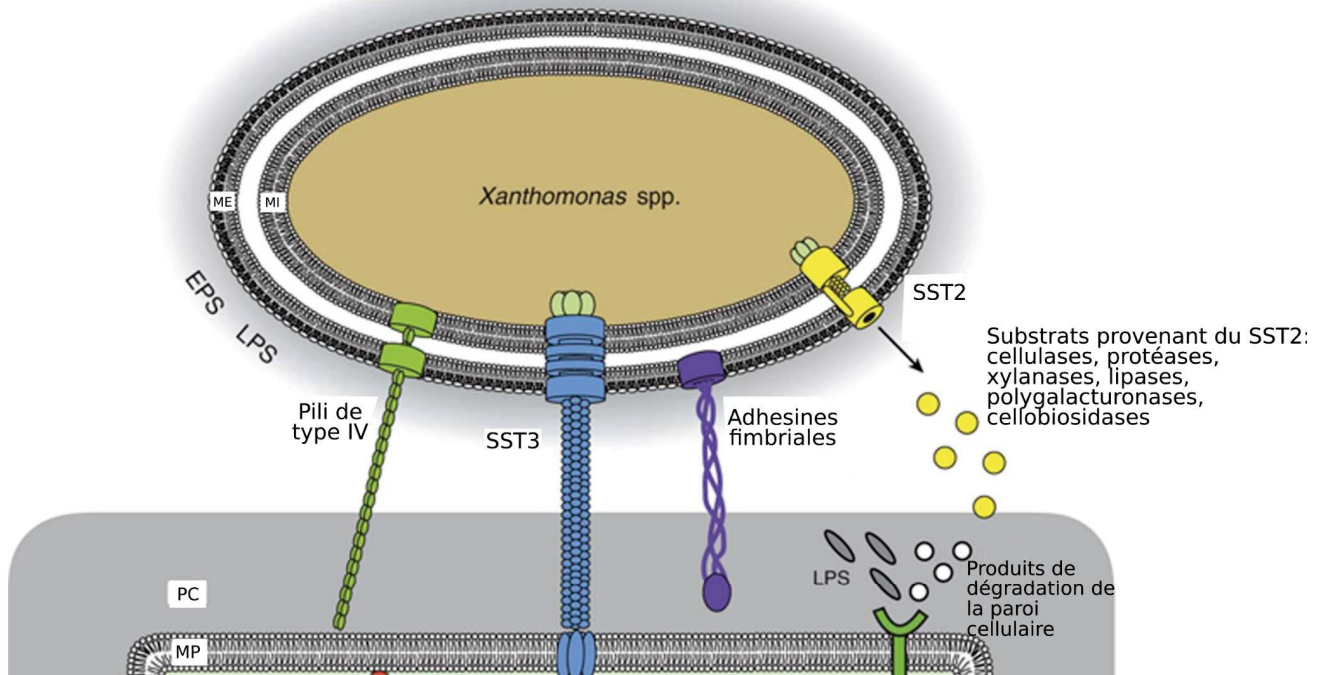


Figure 11. Les structures de surface des bactéries participant à leur pouvoir pathogène.

Les *Xanthomonas* spp. dépendent des SST2 et SST3, des adhésines, des EPS et des lipopolysaccharides (LPS) pour interagir avec leurs plantes hôtes. Les LPS peuvent être libérés de la surface bactérienne et déclencher des réponses de défense de la plante. Les LPS et autres PAMPs sont détectés par des récepteurs spécifiques des plantes qui activent les réponses de défense des plantes (PTI). L'immunité déclenchée par les PAMPs peut également être déclenchée par les produits de dégradation de la paroi cellulaire des plantes qui résultent de l'action des enzymes de dégradation sécrétées par le SST2. Le SST3, qui transloque les protéines effectrices dans la cellule hôte, est essentiel pour la pathogénicité bactérienne. MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; PC, paroi cellulaire ; MP, membrane plasmique. D'après (Buttner and Bonas 2009).

L'adhésion des bactéries aux surfaces biotiques est la clé de l'invasion du tissu hôte. La fixation des bactéries dépend **d'adhésines** spécifiques ancrées dans la membrane externe des bactéries. L'analyse comparative des séquences génomiques a révélé que les bactéries phytopathogènes possèdent un certain nombre d'adhésines qui servent probablement de médiateur à l'attachement bactérien à de multiples récepteurs de la cellule hôte et pourraient contribuer à différentes étapes du processus d'infection (Das et al. 2008). A ce jour, il a été démontré que les adhésines de *Xoo*, *X. axonopodis* pv. *citri* (*Xac*) et *X. fuscans* ssp. *fuscans* (*Xff*) sont impliquées dans la virulence bactérienne et la fixation aux feuilles et/ou aux graines (Ray et al. 2002; Das et al. 2008; Gottig et al. 2009; Darsonval et al. 2009). Les analyses mutationnelles des gènes des adhésines de *Xff* ont révélé que ces dernières contribuent individuellement et de manière complémentaire aux différentes étapes du processus d'infection (Darsonval et al. 2009). En accord avec cela, il a été découvert que XadA et XadB, les adhésines de *Xoo*, sont nécessaires pour l'attachement bactérien à la surface de la feuille, tandis que l'homologue de l'adhésine autotransporteur YapH, de *Yersinia* spp., contribue à la colonisation bactérienne des vaisseaux du xylème (Das et al. 2008).

b) Les systèmes de sécrétion

i. Le système de sécrétion de type 3

Chez la plupart des bactéries à gram négatif pathogènes des plantes et des animaux le système de sécrétion de type 3 (SST3) est un acteur majeur de la pathogénicité. Il est décrit comme une "seringue moléculaire" permettant l'injection d'effecteurs de type 3 (ET3) dans le cytoplasme de la cellule hôte (Figure 12, (Deng et al. 2017). Chez les bactéries phytopathogènes le SST3 est constitué de deux ensembles de protéines codées par les gènes *hrp* ("Hypersensitive response and pathogenicity") et *hrc* ("HR and conserved"). Les protéines Hrc dirigent la sécrétion des substrats SST3 à travers l'enveloppe bactérienne, tandis qu'un sous-ensemble de protéines Hrp sont elles-mêmes sécrétées par le SST3 et dirigent la translocation des effecteurs à travers les barrières des cellules hôtes (Alfano and Collmer 2004). Le groupe de gènes chromosomiques *hrp*, contient plus de 20 gènes organisés en plusieurs unités transcriptionnelles (Büttner and Bonas 2002). Ces gènes ont été découverts pour la première fois chez *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* et se sont révélés essentiels pour la pathogénicité bactérienne et l'induction de la HR dans les plantes hôtes et non hôtes, respectivement (Lindgren et al. 1986). Identifiés dans la plupart des bactéries à gram-négatif, les gènes *hrp* sont absents chez *Agrobacterium tumefaciens* et *Xylella fastidiosa*, cette dernière étant étroitement liée à *Xanthomonas* spp. (Bonas 1994; Simpson et al. 2000; Goodner et al. 2001; Wood et al. 2001).

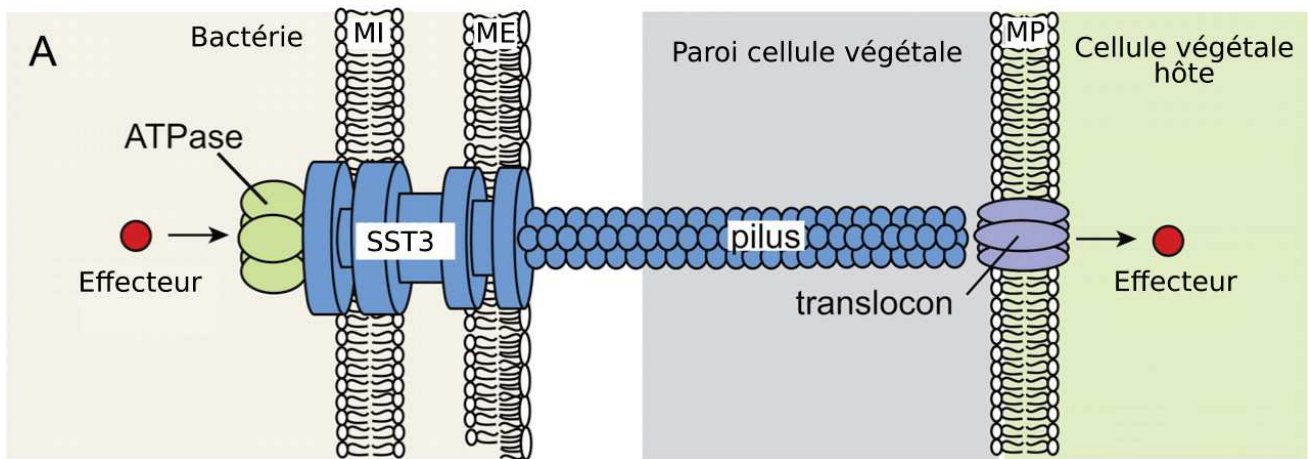


Figure 12. Représentation schématique d'un système de sécrétion de type III (SST3) présent chez les bactéries phytopathogènes (Buttner and He 2009).

Représentation schématique du SST3 des bactéries phytopathogènes. L'appareil de sécrétion traverse les deux membranes bactériennes et est associé à une ATPase cytoplasmique. Le T3SS des bactéries pathogènes des plantes est connecté à un pilus extracellulaire qui traverse vraisemblablement la paroi cellulaire de la plante. Le système T3SS des bactéries pathogènes des animaux est associé à une courte aiguille extracellulaire, qui sert de canal de transport pour les protéines sécrétées. L'aiguille est reliée par le complexe de pointe au translocon, qui forme un canal protéique dans la membrane plasmique de l'hôte et permet le transport des protéines effectrices dans le cytosol de la cellule hôte. La preuve de la présence d'un complexe de pointe chez les bactéries phytopathogènes fait encore défaut. MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; MP, membrane plasmique.

ii. Les autres systèmes de sécrétion

Bien que le SST3 soit considéré comme le principal système de sécrétion responsable de la virulence, la contribution d'autres systèmes de sécrétion à la pathogénie ou à l'aptitude globale du pathogène, comprenant les systèmes de sécrétion de type 2 (SST2) et de type 6 (SST6), a été démontrée chez *X. euvesicatoria*, *X. citri* pv. *citri* et *X. oryzae* pv. *oryzae* (Baptista et al. 2010; Szczesny et al. 2010; Bayer-Santos et al. 2018, 2019). Ces deux systèmes ont été reportés pour être impliqués dans la sécrétion de plusieurs enzymes dégradant la paroi cellulaire (Figure 13).

Le cluster SST2_{xps} est conservé dans le genre *Xanthomonas* (Timilsina et al. 2020), et certaines bactéries en possèdent même plusieurs (e.g. *X. euvesicatoria*). Le SST2 permet la sécrétion vers la matrice extracellulaire de toxines et d'un grand nombre et d'une grande variété d'enzymes telles que des protéases, des lipases et des enzymes de dégradation de la paroi cellulaire. Dans tous les cas examinés, les mutations des gènes codant pour des SST2 diminuent la virulence chez un ou plusieurs hôtes, ce qui montre clairement l'importance du SST2 dans la pathogénèse végétale (Cianciotto and White 2017).

Le SST6 est une machinerie contractile composée de 13 protéines structurelles centrales. Ce système est apparenté, du point de vue évolutif, à la queue des bactériophages (Basler and Mekalanos 2012) et s'assemble en trois complexes majeurs : le complexe transmembranaire, la plaque de base et la queue. Les SST6 sont connus pour médier la compétition entre les bactéries rivales dans les environnements polymicrobiens en transloquant des toxines antibactériennes (e.g. des enzymes dégradant la paroi cellulaire, des nucléases et des enzymes ciblant les membranes) dans les cellules bactériennes concurrentes. Les SST6 peuvent délivrer des effecteurs protéiques autant dans des cellules procaryotes que dans des cellules eucaryotes (Cianfanelli et al. 2016; Hachani et al. 2016). Dans ce même contexte de compétition entre bactéries, les SST6 sécrètent aussi des effecteurs qui facilitent l'acquisition de nutriments (Wang et al. 2015c; Si et al. 2017b, a). Par ailleurs, un grand nombre de bactéries déploient leur système de sécrétion de type 4 (SST4) pour transférer de l'ADN, des protéines ou d'autres macromolécules vers d'autres bactéries ou cellules eucaryotes (Figure 13, (Waksman 2019; Li et al. 2019). Les SST4 sont composés principalement de deux sous-familles, les systèmes de conjugaison, pour échanger de l'ADN, et de translocation d'effecteurs (Cascales and Christie 2003). Ces deux catégories de systèmes nécessitent généralement un contact direct de cellule à cellule; cependant, quelques SST4 fonctionnent indépendamment des interactions avec les cellules cibles pour importer de l'ADN exogène ou exporter de l'ADN ou des protéines vers le milieu (Alvarez-Martinez and Christie 2009; Stingl et al. 2010; Koch et al. 2020).

Les systèmes de sécrétion de type 1 (SST1) ou transporteurs ABC (ATP-binding cassette) sont des complexes hétérotrimériques composés d'un exportateur ABC IM, d'une protéine de fusion

membranaire (MFP) et d'une protéine de membrane externe (OMP) formant un pore. Les T1SS permettent la sécrétion d'un large éventail de substrats (protéiques et non protéiques, tels que des toxines, des protéases et des lipases du cytoplasme vers l'espace extracellulaire en une seule étape, sans intermédiaire périsplasmique stable (Figure 13, (Gerlach and Hensel 2007).

Le système de sécrétion de type 5 (SST5) consiste en une seule chaîne polypeptidique avec un domaine translocateur à barillet β dans la membrane externe, et une région extracellulaire passagère ou effectrice (Figure 13, (Drobnak et al. 2015). Les SST5 n'ont pas de source d'énergie évidente pour le transport, car il n'y a pas d'énergie chimique telle que l'ATP disponible dans le périplasma, et aucun gradient stable de protons ou d'autres ions n'existe à travers la membrane externe. Cela a conduit à l'appellation "autotransporteur" qui suggère un système de sécrétion complètement autosuffisant (Klauser et al. 1993). Les substrats transportés par les autotransporteurs ont des fonctions très diverses, allant des adhésines (fixation aux surfaces, formation de biofilm) ou des enzymes aux protéines toxiques.

4. Les effecteurs TAL et non-TAL

Parmi les ET3 de *Xanthomonas*, certains sont capable de moduler la physiologie de l'hôte pour obtenir des nutriments, faciliter l'infection et/ou échapper aux réponses immunitaires de l'hôte (Kay and Bonas 2009). On les classe en deux groupes principaux en fonction de leur structure moléculaire, de leur fonction et de leurs interacteurs. Le premier groupe forme un ensemble hétérogène de protéines dites "***Xanthomonas* outer proteins**" (Xops), ce sont des effecteurs dotés d'un large éventail d'activités enzymatiques, dont les cibles et les effets physiologiques associés se situent principalement dans le cytoplasme de l'hôte et dont le mécanisme d'action repose sur des interactions protéine-protéine. Le second regroupe uniquement les protéines de la famille des "**Transcription Activator Like Effectors**" (TALE), qui sont des protéines modulaires partageant une architecture très spécifique combinée à des motifs eucaryotes qui leur permettent d'agir comme de véritables facteurs de transcription dans le noyau de l'hôte.

La plupart des Xops sont impliqués dans l'altération des voies de défenses déclenchée par les PAMP-DAMP (PTI/DTI) ou par les effecteurs (ETI). Comme exemple de Xops qui suppriment les défenses de la plante, il y a XopP de *Xoo*, qui a récemment été identifié pour bloquer l'immunité déclenchée par les peptidoglycanes et la chitine, chez le riz, en inhibant l'ubiquitine ligase U-box *OsPUB44*, un régulateur positif de l'immunité basale (Ishikawa et al. 2014). Un autre exemple apparaît chez la souche *Xoo* PXO99^A qui possède 18 effecteurs bactériens non-TAL. Parmi eux, XopZ agit comme un facteur de virulence et supprime les mécanismes de défense basale des plantes. XopZ permet de réduire le dépôt de callose, et serait induit de façon HrpG-dépendante (Song and Yang 2010). XopD est un autre exemple de Xop utilisant une voie de type ubiquitine et

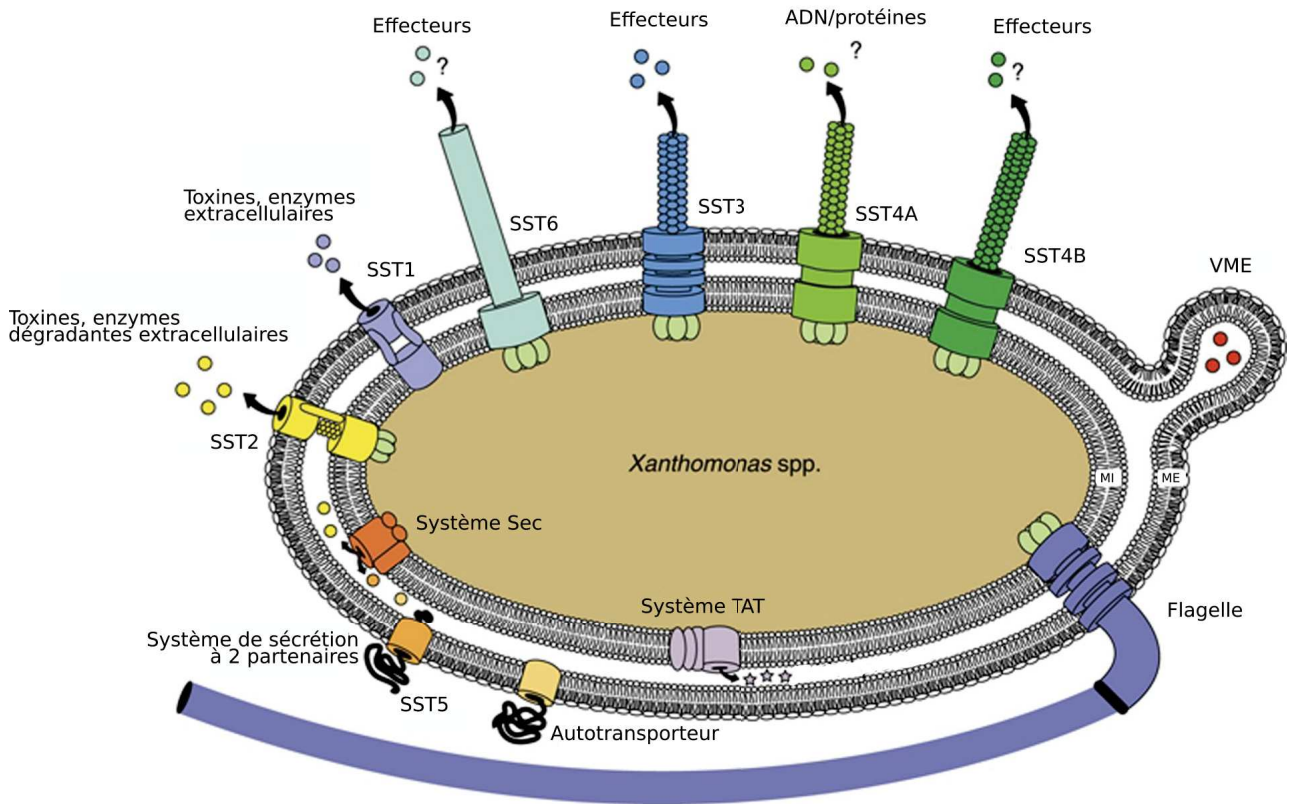


Figure 13. Représentation schématique des systèmes de sécrétions présents chez *Xanthomonas* spp. (Buttner and Bonas 2009).

Six types de systèmes de sécrétions sont représentés ici. Les systèmes SST2 et SST5 dépendent du système Sec ou TAT pour le transport des protéines à travers la membrane interne. Les systèmes SST3, SST4 et SST6 sont associés à des structures “pilus” extracellulaires et transloquent vraisemblablement les protéines dans la cellule hôte. Jusqu'à présent, la translocation des protéines a été prouvée expérimentalement pour les SST3. Dans quelques cas seulement, la sécrétion des protéines dépend de la formation de vésicules de la membrane externe (VME). MI, membrane interne ; ME, membrane externe ; TAT, twin-arginine translocation.



Figure 14. Structure type d'un effecteur TAL de *Xanthomonas*.

Les TALE possèdent un signal de translocation, qui permet le transport du TALE à l'intérieur de la cellule hôte via le SST3. Une région centrale où des répétitions en tandem se succèdent, conférant au TALE cette spécificité de fixation au promoteur du gène cible. Les TALE possèdent aussi plusieurs motifs NLS (“Nuclear Localisation Signal”), et un domaine d'activation (AD) de la transcription, en C-terminal. Les TALE sont très conservés, mais le nombre de répétitions, ainsi que l'ordre de ces dernières les différencient et définissent leur activité. D'après (Boch & Bonas 2010).

agissant comme une protéase SUMO pour déstabiliser sa protéine cible et ainsi améliorer la virulence de *X. euvesicatoria* pendant l'infection des plants de tomate (Üstün and Börnke 2014). XopY de la souche *Xoo* T7174 interagit avec deux kinases cytoplasmiques semblables à des récepteurs RLCK, OsRLCK55 et OsRLCK185, et supprime la phosphorylation d'OsRLCK185 pour interférer avec la signalisation d'une protéine MAPK (Yamaguchi et al. 2013). Il a également été démontré que XopN, un effecteur important de la souche de *Xoo* KXO85, cible *OsVOZ2* et *OsXNP*, codant un facteur de transcription de type "Vascular Plant One-Zinc Finger 2" et une thiamine synthase putative, respectivement. XopN, induit de façon HrpX-dépendante, permettrait l'infection et l'accroissement de la virulence chez KXO85 via l'interaction avec *OsVOZ2* dans le cytoplasme et le noyau (Cheong et al. 2013). A contrario, les TALE agissent comme des facteurs de transcription qui remodelent le métabolisme cellulaire de l'hôte par l'activation de gènes de sensibilité (S) afin de créer de meilleures niches pour les bactéries (Timilsina et al. 2020) **(Plus de détails sur les TALE seront donnés dans la section suivante V.)**.

V. L'interaction TALE-hôte

Le gène *avrBs3* a été le premier membre isolé de la famille des TALE. Il a été identifié génétiquement à l'Université de Floride, à Gainesville, par Ulla Bonas et ses collaborateurs. C'est l'inoculation des souches 71-21 et 82-8 de *X. euvesicatoria* conduisant à une HR chez le cultivar de poivron résistant ECW-30R, portant le gène *R Bs3*, qui suggéra la présence d'un gène d'avirulence (*avr*) correspondant, appelé *avrBs3*, dans les deux souches (Bonas et al. 1989). Par la suite, la complémentation de la souche virulente *Xcv* 85-10 avec *avrBs3* entraîna l'induction d'une HR dans les feuilles des plantes de poivron ECW-30R, ce qui permit de confirmer son rôle d'effecteur d'avirulence (Bonas et al. 1989). Peu après la découverte d'*avrBs3*, trois homologues de la famille des TALE, *avrXa5*, *avrXa7* et *avrXa10*, ont été clonés à partir de la souche de *Xoo* PXO99^A en utilisant *avrBs3* comme sonde (Hopkins et al. 1992).

1. Structure des TALE

Après *AvrBs3* un grand nombre d'autres TALE ont été décrits chez de nombreuses espèces de *Xanthomonas* montrant que la structure de ces protéines est très conservée et se caractérise par (Figure 14) :

- un **signal de sécrétion de type III**, en N-terminal, permettant la translocation du TALE dans le cytoplasme de la cellule hôte (Szurek et al. 2002),
- un **domaine central** où des répétitions en tandem se succèdent (de 1,5 à plus de 30) (Bonas et al. 1989). Chaque répétition est constituée de 33 à 34 acides aminés, quasiment identiques, à l'exception de ceux en position 12 et 13 qui sont hypervariables et appelés

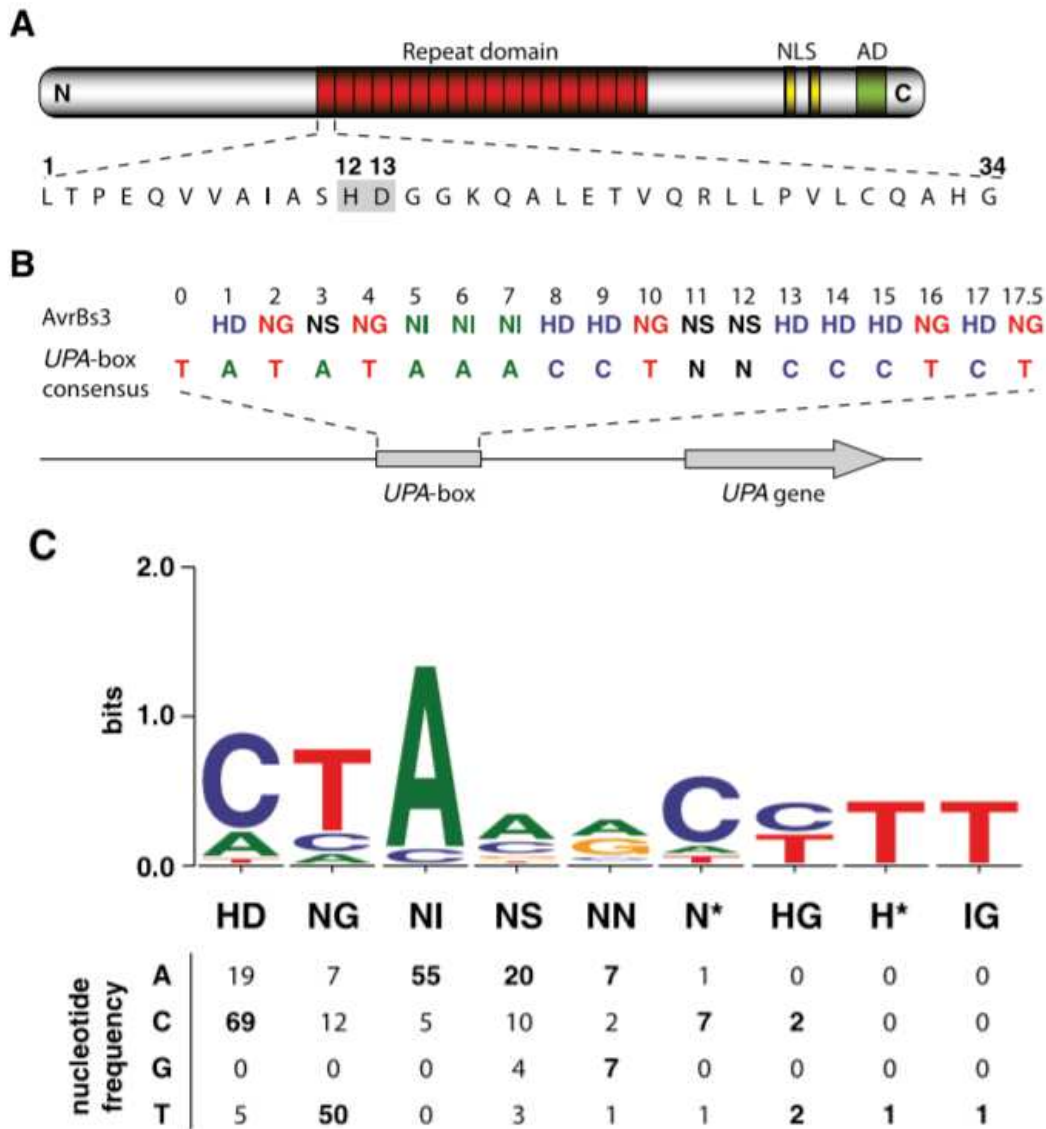


Figure 15. Modèle de la spécificité de l'interaction de l'ADN-cible et des TALE.

(A) Les effecteurs TAL contiennent au niveau de la région centrale des répétitions en tandem se composant de 33/34 acides aminés quasi-identiques, à l'exception de deux résidus hypervariables : les RVD ("Repeat Variable Diresidue"). Les acides aminés hypervariables 12 et 13 sont ombrés en gris. (B) Les acides aminés hypervariables aux positions 12 et 13 des 17,5 répétitions du TALE AvrBs3 de *X. euvesicatoria* sont alignés sur le consensus de la « UPA box ». (C) Les répétitions des effecteurs TAL et des séquences cibles prédites dans les promoteurs de gènes induits ont été alignées manuellement. Les nucléotides dans le brin d'ADN supérieur qui correspondent aux acides aminés hypervariables dans chaque répétition ont été comptés sur la base des combinaisons suivantes de huit TALE et gènes cibles identifiés expérimentalement : AvrBs3/Bs3, UPA10, UPA12, UPA14, UPA19, UPA20, UPA21, UPA23, UPA25, AvrBs3rep16/Bs3-E, AvrBs3rep109/Bs3, AvrHahl/Bs3, AvrXa27/Xa27, PthXol/Xa13, PthXo6/OsTFXI et PthXo7/OsTFIIAgl. Un astérisque indique que l'acide aminé 13 est absent dans ce type de répétition. Les fréquences nucléotidiques les plus élevées sont en gras. Les fréquences nucléotidiques sont affichées dans un logo (<http://weblogo.threeplusone.com>). D'après (Boch et al. 2009).

Culture	Nombre de gènes <i>SWEET</i>	Références
<i>Arabidopsis thaliana</i>	17	(Chen et al. 2010)
<i>Amborella trichopoda</i>	8	(Eom et al. 2015)
<i>Oryza sativa</i>	22	(Streubel et al. 2013)
<i>Sorghum bicolor</i>	23	(Mizuno et al. 2016)
<i>Glycine max</i>	53	(Eom et al. 2015)
<i>Solanum tuberosum</i>	35	(Manck-Gotzenberger et al. 2016)
<i>Solanum lycopersicum</i>	29	(Feng et al 2015)
<i>Malus domestica</i>	33	(Wei et al. 2014)
<i>Vitis vinifera</i>	17	(Chong et al. 2014)

Tableau 2. Nombre de gènes *SWEET* au sein de certaines espèces du règne des *Plantae*.

Tableau adapté de (Mondal et al. 2021).

RVD pour "Repeat Variable Di-residues" (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Le résidu en position 13 plus particulièrement est celui qui confère au TALE sa spécificité de fixation au promoteur du gène cible en déterminant l'interaction avec les nucléotides; le résidu 12 quant à lui permettrait de stabiliser cette interaction (Deng et al. 2012; Mak et al. 2012),

- **plusieurs motifs NLS**, pour "Nuclear Localisation Signal", généralement deux ou trois, en C-terminal, leur permettant de voyager jusqu'au noyau de la cellule hôte grâce à leur liaison avec des importines α (Szurek et al. 2002; Hui et al. 2019b),

- un **domaine d'activation (AD)** de la transcription en C-terminal permettant l'induction des gènes ciblés via le recrutement de la machinerie de transcription de l'hôte (Marois et al. 2002).

2. Mécanisme de reconnaissance TALE-ADN

Le nombre de répétitions au niveau de la région centrale ainsi que la composition et l'enchaînement en RVD définissent la spécificité de reconnaissance de la séquence cible chez l'hôte. Les TALE se fixent à une séquence d'ADN appelée EBE pour "Effector Binding Element", située dans le promoteur des gènes cibles. En se basant sur le fait que AvrBs3 se lie directement à la "UPA-box" (élément promoteur) du gène *Bs3* et que la taille de cette "box" correspond en tout point au nombre de répétitions du domaine central de ce TALE, la possibilité qu'une répétition se lie physiquement à une paire de base d'ADN fut alors envisagée. En 2009 deux équipes découvrent le secret de l'interaction TALE-ADN, l'une par une approche génétique, l'autre par une approche computationnelle (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Le modèle une fois expliqué paraît simple : une répétition reconnaît une paire de bases, de telle sorte qu'une série de répétitions en tandem reconnaît une séquence d'ADN comprenant autant de nucléotides qu'il y a de répétitions. Le nombre de répétitions qui varient d'un TALE à l'autre va donc définir la longueur de l'EBE ciblée (Figure 15). Il a d'abord été montré que les RVD définissaient la spécificité de liaison, par exemple NN reconnaît un cycle purique, NG ou HG reconnaissent une thymine, et HD reconnaît une cytosine. Parmi les RVD plus répandues on note HD, NG, HG, NN, NS, NI et N* (l'étoile signifiant une répétition de 33 aa du fait de l'absence du résidu 13). Selon Boch et ses collaborateurs (2009) six répétitions au minimum seraient nécessaires à l'induction d'une cible. En 2012, Mak et ses collaborateurs révèlent la structure en trois dimensions des TALE et comment ces derniers se fixent à l'ADN (Mak et al. 2012) (**voir aussi section V.6. pour les applications biotechnologiques des TALE**).

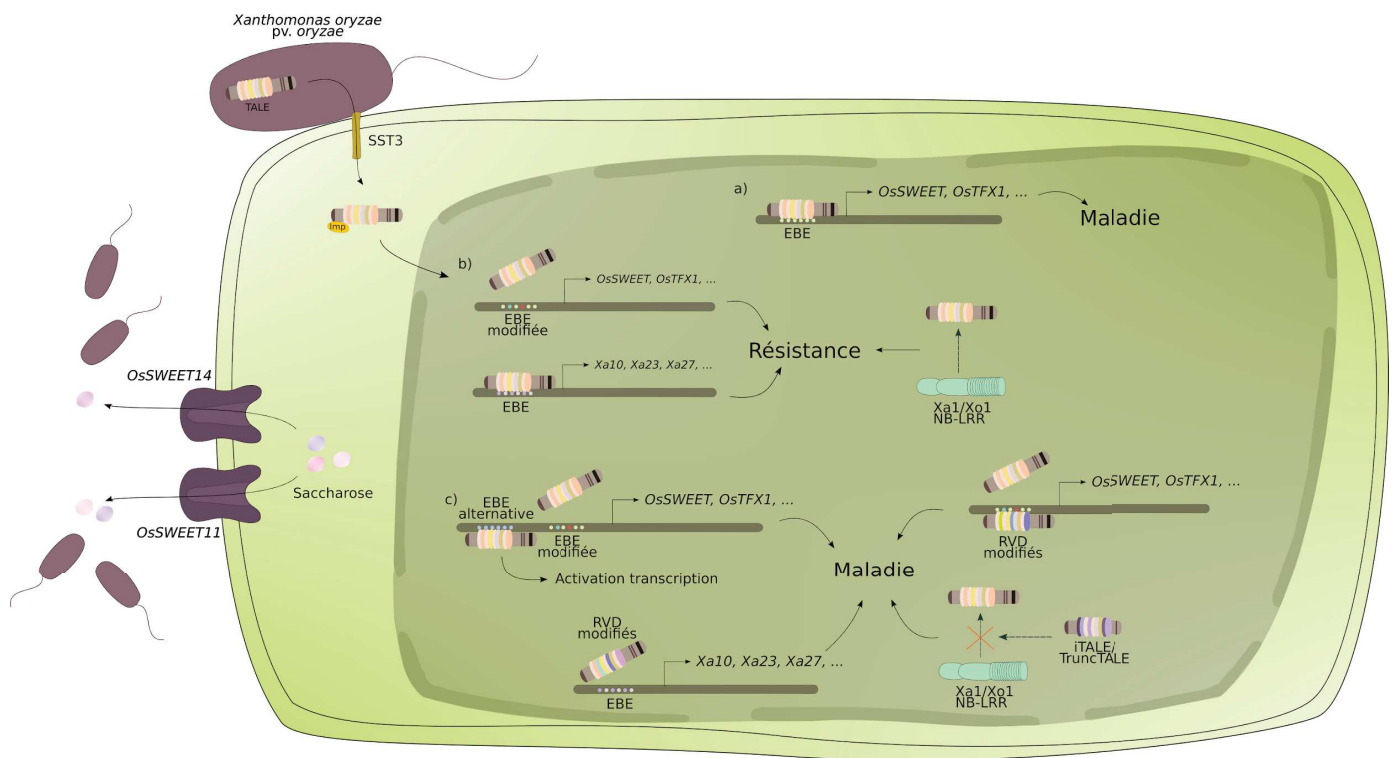


Figure 16. Effecteurs TAL de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* en interaction avec la cellule végétale.

a) Dans un contexte d'interaction compatible avec l'hôte, certains TALE de *Xoo* se fixent au niveau de séquences appelées EBE, pour "Effector Binding Element", situées dans le promoteur des gènes de sensibilité (S). Cette fixation, permet de recruter la machinerie cellulaire de l'hôte et d'induire la transcription de gène S, favorisant ainsi la croissance bactérienne et le développement de la maladie.

b) Au fil du temps, la plante a développé des mécanismes lui permettant de contrer l'agent pathogène, soit i) en modifiant l'EBE située dans les promoteurs des gènes S, empêchant ainsi les TALE de virulence de s'y fixer et d'induire la maladie; soit ii) en créant des EBE positionnées en amont gènes de résistance, que l'on nomme gènes exécuteurs (E), piégeant ainsi les TALE qui induisent par conséquent les gènes de résistance ciblés; ou bien iii) via la reconnaissance de ces effecteurs par le biais de protéines de type NB-LRR, comme Xa1 ou encore Xo1, menant au déclenchement des voies de défense de la plante.

c) Toutefois, dans cette course aux armements la bactérie a elle aussi trouvé d'autres moyens pour contourner les systèmes de défense de la plante. Là où la plante a modifié une EBE, la bactérie va faire en sorte de trouver une EBE alternative dans le promoteur du gène S pour pouvoir de nouveau l'induire. Une autre astuce utilisée par la bactérie est de modifier la séquence en RVD de ses TALE pour pouvoir se fixer sur l'EBE modifiée. Par ailleurs, cette technique de modification de séquence RVD, permet aussi à la bactérie de contourner la résistance médiée par l'induction de gènes E. Pour finir, afin de contrer les mécanismes de résistance NB-LRR dépendants, la bactérie a développé des TALE tronqués, ou interférant, nommés TruncTALE ou iTALE. Les mécanismes régissant ce contournement de la résistance ne sont pas encore bien compris, cependant il semblerait que la présence de ces TALE interférant, chez les certaines souches de *Xoo* Asiatiques, permettrait aux TALE "classiques" de ne pas déclenchaient la résistance, dans des variétés au fond génétique comportant *Xa1/Xo1*.

3. La sensibilité à travers les TALE

Les TALomes, répertoire de gènes *tal*, des différentes espèces de *Xanthomonas* varie en nombre et en composition en fonction des souches, mais aussi des pathovars. Les TALE jouent un rôle majeur dans l'interaction avec l'hôte en induisant l'expression de gènes dit de sensibilité (S) dont l'induction est essentielle à la multiplication du pathogène et/ou au développement de symptômes. Ces gènes S codent majoritairement des transporteurs (de sucres, de sulfate...), ou des facteurs de transcription (Figure 16.a). Parmi eux, les transporteurs de sucres particulièrement, sont les cibles communes de plusieurs TALE et ce dans divers pathosystèmes, représentant des cas d'évolution convergente. C'est pourquoi de nombreuses études ont été menées afin de les caractériser, dans des conditions d'interactions plante-pathogène.

a) Les transporteurs membranaires

Les gènes *SWEET* se retrouvent en très grand nombre chez les plantes, contrairement à une seule copie chez les mammifères. Ces gènes codent pour des transporteurs membranaires de sucres qui sont impliquées de manière significative dans différents événements biologiques des plantes (e.g. la sénescence, le développement du pollen, les interactions plante-pathogène). Le nombre de gènes de la famille des *SWEET* varie considérablement au sein du règne des *Plantae* (Tableau 2). Il peut aller de 8 gènes *SWEET* chez *Amborella trichopoda*, une angiosperme précoce, jusqu'à 53 chez *Glycine max* de la famille des *Fabaceae* au sein du phylum Angiospermes (Eom et al. 2015). Des études phylogénétiques détaillées ont permis de les classer en quatre clades, en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre (Eom et al. 2015; Chen et al. 2015; Li et al. 2018). C'est dans le cadre de l'interaction *Xoo*-riz que le rôle déterminant de certains gènes *SWEET* dans le développement de la maladie a été mis en évidence pour la première fois (Chen et al. 2010). Il existe 22 paralogues des gènes *SWEET* chez le riz et il a été démontré que tous les membres du clade III pouvaient agir comme des gènes de sensibilité (Streubel et al. 2013). Cependant seul trois d'entre eux ont été démontrés comme naturellement induits par différentes souches de *Xoo*. Il s'agit de *OsSWEET11* (alias *Xa13*) qui est induit transcriptionnellement par le TALE PthXo1 (Römer et al. 2010), le gène *OsSWEET13* (alias *Xa25*) induit par les TALE PthXo2A, PthXo2B et PthXo2C (Zhou et al. 2015; Zaka et al. 2018), et le gène *OsSWEET14* (alias *Xa41*) induit par les TALE AvrXa7, PthXo3, TalC ou TalF (alias Tal5) (Figure 17, (Streubel et al. 2013; Tran et al. 2018). Dans ce dernier cas, tous les TALE mentionnés, à l'exception de TalC, utilisent des EBE qui se chevauchent (Figure 18). Plusieurs hypothèses ont été émises quant à la fonction que pourrait jouer la surexpression des *SWEETs* dans le développement des bactérioses. L'export de sucres de la cellule vers l'apoplaste pourrait servir de source de carbone pour la bactérie. Une autre possibilité serait que ce déséquilibre en sucre favorise une accumulation d'eau, qui faciliterait

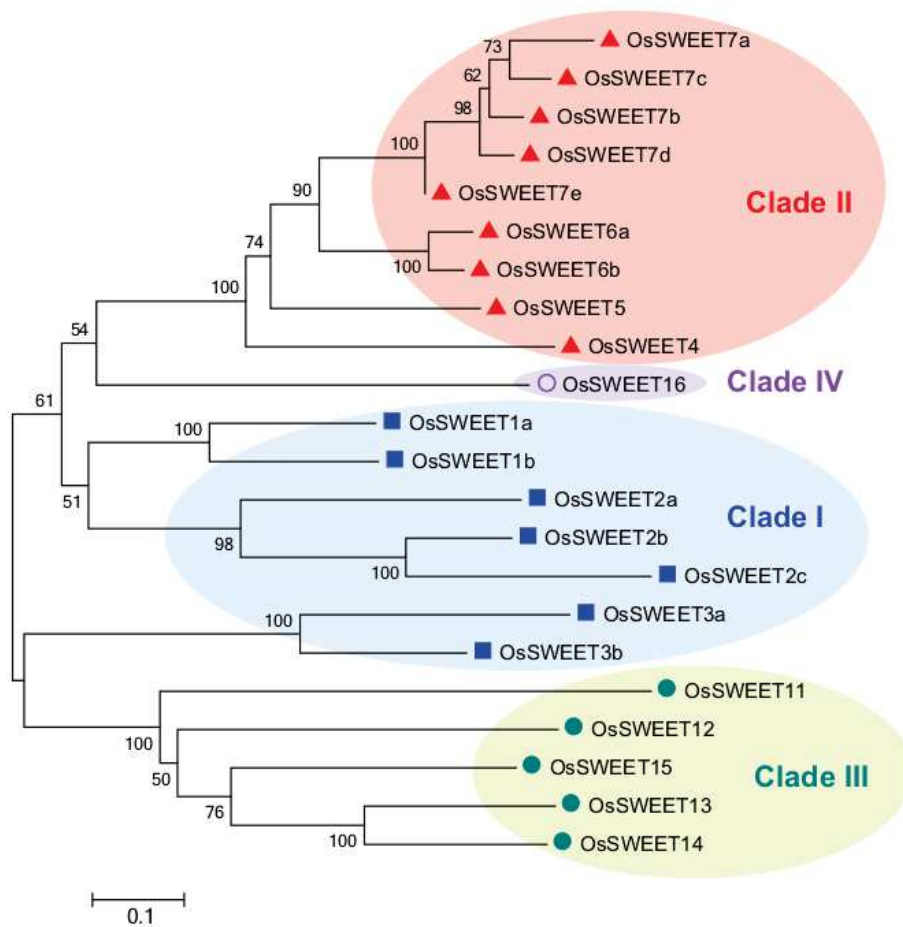


Figure 17. Gènes *OsSWEET* du riz répartis en cinq clades en fonction de la sélectivité relative des molécules de sucre.

Arbre phylogénétique des protéines *OsSWEET*. Les séquences en acide aminé ont été obtenues à partir d'UniProt et alignées à l'aide de MUSCLE avec les paramètres par défaut. Les alignements ont été analysés par la méthode "neighbor-joining" avec MEGA5.10. Les nombres aux intersections représentent la valeur de pourcentage de bootstrap basé sur 1000 répliqués. Les protéines du clade I sont précédées d'un carré bleu, du clade II d'un carré rouge, du clade III d'un rond vert et du clade IV d'un cercle violet. Tous les membres du Clade III agissent comme des gènes *S*, mais uniquement trois (*OsSWEET1*, *OsSWEET13* et *OsSWEET14*) sont induits naturellement par des TALE de *Xoo*. D'après (Streubel et al. 2013).

hypothétiquement le mouvement de l'agent pathogène et l'entrée d'une plus grande quantité de bactéries dans le tissu (Chen 2014; Schwartz et al. 2017; Aung et al. 2018; El Kasmi et al. 2018). De façon intéressante, la convergence évolutive pour l'induction des gènes *SWEET* est aussi retrouvée entre pathosystèmes puisque des gènes homologues sont aussi induits par des TALE de *Xanthomonas* chez d'autres hôtes (Figure 18). Chez le manioc, l'induction du gène *MeSWEET10a* par l'effecteur TAL20_{Xam668} entraîne l'exportation de glucose et de saccharose vers l'apoplaste, le développement de lésion aqueuse et une augmentation de la croissance bactérienne apoplastique (Cohn et al. 2014). Chez les agrumes, les TALEs PthA4, PthA^w et PthA* induisent le gène *CsSWEET1*, qui appartient au clade I, mais cette activation se semble pas favoriser le développement de la maladie, ce qui laisse penser que ce transporteur ne joue pas de rôle dans la pathogénie (Hu et al. 2014). Chez le coton, il a été démontré que le gène *GhSWEET10* est activé par le TALE de virulence majeur AvrB6 présent dans la souche *Xcm_{H1005}*, et que son activation est associée non seulement à l'exportation de saccharose et à la formation de lésions aqueuses, à la dispersion des bactéries à la surface de la feuille, mais ne permet pas d'accroître la quantité de bactéries dans le mésophylle (Yang et al. 1994; Cox et al. 2017).

A ce jour, chez *Xoc* seul un TALE de virulence majeur a été identifié. Il s'agit de Tal2g, identifié par mutagenèse de chacun des TALE de la souche de *Xoc* BLS256. Tal2g induit le gène de sensibilité *OsSULTR3;6*, codant un transporteur de sulfate, nécessaire au développement complet des symptômes de la bactériose à stries foliaires chez le riz. *Xoo* et *Xoc* se distinguant par leur spécificité tissulaire d'infection, il est intéressant de noter que *Xoc* induit un autre type de transporteur. La perturbation de l'interaction entre Tal2g et son EBE dans le promoteur de *OsSULTR3;6* entraîne des lésions aqueuses plus petites et une exsudation des bactéries à la surface des lésions moindre. Bien que les implications physiologiques exactes de la régulation de ce gène dans la pathogénie ne soient pas encore bien comprises, on suppose qu'il modifie le statut redox ou l'équilibre osmotique de la cellule pour interférer avec la signalisation de défense et favoriser le développement des symptômes (Cernadas et al. 2014).

b) Les facteurs de transcription

Une deuxième catégorie plus hétérogène de gènes *S* ciblés par les TALE sont les facteurs de transcription. La surexpression de ces gènes entraîne la dérégulation d'une ou plusieurs de leurs cibles secondaires, ce qui par conséquent permet le développement de la maladie. Certaines de ces cibles primaires et secondaires ont été caractérisées. Par exemple, chez le poivron, le gène *upa20*, qui code pour un facteur de transcription de la famille des bHLH ("basic helix-loop-helix"), est le premier facteur de transcription ciblé par un TALE à avoir été caractérisé. Dans un contexte de maladie, ce gène est induit par AvrBs3 de *X. euvesicatoria* et trans-active le gène *upa7*, codant pour

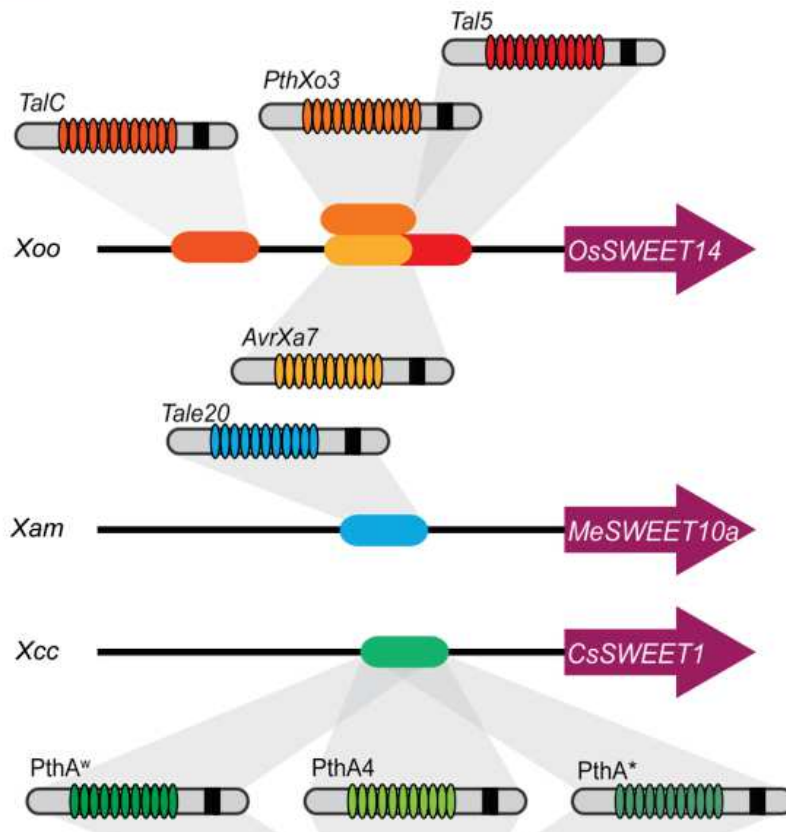


Figure 18. Convergence fonctionnelle des effecteurs bactériens TAL dans différents pathosystèmes et leurs cibles végétales.

Plusieurs cibles de sensibilité de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* appartiennent au clade III de la famille *SWEET*. Quatre TALE provenant de diverses souches de *Xoo* appartenant à des lignées différentes et d'origines géographiques distinctes ciblent *OsSWEET14*. TalC et Tal5 des deux souches Africaines de *Xoo* BAI3 (Burkina Faso) et MAI1 (Mali) se lient à deux sites de liaison (EBE) distincts. De plus, le promoteur d'*OsSWEET14* est ciblé par deux souches Philippines de *Xoo*, PXO86 et PXO61 par l'intermédiaire des TALE AvrXa7 et PthXo3. Les EBEs correspondants se chevauchent partiellement avec l'EBE de Tal5. Les réseaux de di-résidus variables répétés (RVD) et le nombre de répétitions (non représenté dans la figure) pour ces trois TALE sont significativement différents, mettant en évidence une convergence évolutive. La série PthA de *X. citri* ssp. *citri*. PthA4, PthA^w, et PthA^{*} induisent *CsSWEET1* appartenant au clade I de la famille *SWEET* chez les agrumes. Cependant, un rôle dans le développement de la maladie n'a pas été encore démontré. Une troisième espèce, *X. axonopodis* pv. *manihotis*, cible via TAL20 un membre de la famille *SWEET*, *MeSWEET10a*, qui appartient au Clade III, chez le manioc, et agit comme un gène de sensibilité. D'après (Hutin et al. 2015a).

une α -expansine. La surexpression d'*upa7* entraîne un élargissement des cellules du mésophylle des feuilles du piment ce qui permet le développement des symptômes foliaires et améliore potentiellement la survie épiphyte du pathogène (Wichmann and Bergelson 2004; Kay et al. 2007). Chez les agrumes, PthA4 et plusieurs de ces homologues ciblent le gène de sensibilité *CsLOB1*, un facteur de transcription appartenant à la famille des "Lateral Organ Boundaries" (LOB) (Hu et al. 2014). Dans des conditions non-pathogènes, les membres de la famille LOB régulent la croissance et le développement des plantes (Majer and Hochholdinger 2011). Dans des conditions pathogènes, la surexpression de *CsLOB1* entraîne une hypertrophie et une hyperplasie, ensemble de symptômes typiques de la maladie du chancre bactérien des agrumes (Hu et al. 2014).

Chez le riz, le gène *OsTFX1* code pour un facteur de transcription possédant un domaine bZIP ("basic leucine zipper"). Dans des conditions non-pathogènes cette catégorie de facteur de transcription peut être impliqué, entre autres, dans le développement des graines, la tolérance au sel, à la sécheresse et aux basses températures, mais aussi dans la fertilité du riz (Romagosa et al. 2001; Zou et al. 2008; Liu et al. 2012b). Les TALE PthXo6 et TalB, provenant respectivement de souches de *Xoo* Asiatiques et Africaines, se fixent au promoteur de ce facteur de transcription entraînant son induction et soutenant ainsi la virulence de l'agent pathogène (Sugio et al. 2007; Tran et al. 2018). L'expression constitutive de *OsTFX1* suffit à rendre la plante complètement sensible, même en l'absence de PthXo6, confirmant que *OsTFX1* agit comme un gène *S* (Sugio et al. 2007).

Par ailleurs, TalB régule aussi l'expression du gène *OsERF#123*, codant une protéine qui contient un domaine AP2, dont la surexpression confère une sensibilité à *Xoo* chez le riz (Tran et al. 2018). Ces facteurs de transcription de la famille AP2/ERF sont impliqués dans la réponse à plusieurs stress et certains sont capables de répondre à la signalisation de l'ABA et de l'ET, participant ainsi à l'activation de gènes de réponse aux stress (Xie et al. 2019). Il a été montré que les membres de la famille des facteurs de transcription AP2/ERF se fixent sur des séquences spécifiques appelées boîte GCC et jouent des rôles importants dans la défense contre les stress biotiques et abiotiques. Chez les plantes la surexpression de certains gènes AP2/ERF permet d'augmenter leur résistance aux bactéries, aux champignons et aux virus (Park et al. 2001; Gutterson and Reuber 2004; Zuo et al. 2007; Zhang et al. 2009; Jisha et al. 2015). Toutefois, lors de l'infection par des souches de *Xoo* Africaines, *OsERF#123* pourrait agir comme un "hub" pour moduler négativement les défenses contre l'agent pathogène (Tran et al. 2018). De plus, chez la souche de *Xoc* BLS256, Tal3c régulerait l'expression d'*ERF#123*, sans pour autant affecter l'état de virulence de la souche (Wang et al. 2017).

4. L'immunité et les TALE

a) La résistance par perte de sensibilité : contournement de l'ETS

Une des stratégies employées par les plantes pour contrer l'action des TALE est la génération de mutations au sein des promoteurs des gènes *S*, de manière à empêcher l'interaction TALE-ADN et donc l'induction du gène *S* (Figure 16.b). On observe alors une résistance dite par "perte de sensibilité". C'est le cas des allèles récessifs de *OsSWEET11/Xa13*, *OsSWEET13/Xa25* et *OsSWEET14/Xa41*, renommés respectivement *xa13*, *xa25* et *xa41* (Hutin et al. 2015a). Il existe une quantité importante de variétés de riz qui portent naturellement un allèle récessif *xa13*. Tous ces allèles diffèrent de *Xa13* par une insertion, délétion ou substitution dans l'EBE de PthXo1 (Römer et al. 2010). En ce qui concerne l'allèle récessif *xa25*, il diffère de *Xa25* par une délétion d'un seul nucléotide localisé dans l'EBE de PthXo2 (Zhou et al. 2015). Et quant à l'allèle récessif *xa41*, une délétion de 18 pb chevauchant les séquences reconnues par les effecteurs Tal5, PthXo3 et AvrXa7 a été identifié, conférant ainsi une forme de résistance à large spectre (Hutin et al. 2015b).

Un autre cas de résistance par perte de sensibilité apparaît lorsque la mutation est générée au sein de la séquence codante d'un gène. La région C-terminale des TALE contient des domaines qui interagissent avec des facteurs de transcription pour initier l'activation transcriptionnelle, et les unités TFIIA γ ont été décrites comme les facteurs de transcription interagissant avec les TALE dans le riz, les agrumes, le poivron et la tomate (Yuan et al. 2016; Huang et al. 2017). Dans le cas du facteur de transcription TFIIA γ 5, qui code pour l'une des sous-unités gamma du facteur général de transcription A nécessaire à la transcription dépendante de l'ARN polymérase II, on observe chez l'allèle récessif *xa5* un changement du 39^e aa d'une valine en une glutamine (Jiang et al. 2006; Iyer and McCouch 2007). Cette mutation dans le domaine N-terminal de la protéine diminue l'association entre TFIIA γ 5 et le domaine de liaison au facteur de transcription du TALE, ce qui est crucial pour une activation transcriptionnelle efficace (Yuan et al. 2016; Hui et al. 2019a; Han et al. 2020).

b) Induction des gènes exécuteurs (*E*)

Précédemment nous avons abordé le cas de la résistance provenant de la non-induction d'un gène de sensibilité; nous n'étions alors pas dans le cas d'une "ETI", mais dans celui d'une absence de déclenchement de la maladie ou "ETS compromise". Cependant un autre mécanisme de résistance existe, provenant de l'induction par les TALE de gènes dit exécuteurs (*E*), un gène dont l'induction empêche la croissance bactérienne via l'activation de processus de mort cellulaire (Figure 16.b, (Boch et al. 2014).

i. Le premier gène exécuteur identifié

Les gènes *E* codent pour des petites protéines de fonction inconnue et ne ressemblent pas aux protéines de résistance classiques que sont les NB-LRR. Le premier gène de résistance de type *E* à avoir été cloné chez le riz est le gène *Xa27* (Gu et al. 2005). Localisé sur le chromosome 6, il a été isolé par clonage positionnel (Gu et al. 2004). Les souches de *Xoo* portant le gène *tal avrXa27* sont en capacité d'induire *Xa27* et par conséquent la production d'une petite protéine de 113 aa sécrétée dans l'apoplaste, qui est toxique pour la cellule (Zhang et al. 2015). La surexpression de cette protéine entraîne un épaissement des éléments du faisceau vasculaire, ainsi qu'une HR bloquant totalement le développement de la bactériose vasculaire du riz (Wu et al. 2008). La résistance conférée par *XA27* est affectée par le stade de développement, augmentant avec l'âge des plantes et atteignant une résistance maximale à cinq semaines (Gu et al. 2004). Aucune protéine similaire n'a été rapportée en dehors du riz et les séquences protéiques de *XA27* chez la lignée sensible IR24 et la lignée résistante IRBB27 sont identiques. Ce qui les différencie est une délétion de trois nucléotides et la substitution d'un nucléotide dans l'EBE ciblé par *AvrXa27*. Une analyse de la diversité nucléotidique de *Xa27* reposant sur 27 accessions de riz sauvages et cultivés (*O. nivara* et *O. sativa*) a montré qu'IRBB27 était la seule variété à avoir une EBE fonctionnelle (Bimolata et al. 2013).

ii. Les autres gènes exécuteurs connus

A ce jour six gènes *E*, ainsi que leur effecteurs d'avirulence TALE associés, ont été clonés, à savoir *Bs3* et *Bs4C-R* chez le poivron (Römer et al. 2007; Strauß et al. 2012) et *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27* chez le riz (Gu et al. 2005; Tian et al. 2014; Wang et al. 2015a, 2021; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021).

- *Bs3* et *Bs4C*

Chez le poivron, le gène de résistance *Bs3*, isolé par clonage positionnel (Jordan et al. 2006), code pour une protéine de 342 aa présentant des homologies avec les protéines de la famille FMO ("flavin-dépendant mono-oxygénase"), et plus particulièrement avec celles de la sous-classe *Yucca* d'*Arabidopsis* (Römer et al. 2007). Ces dernières sont connues pour jouer un rôle dans la biosynthèse de l'auxine et dans des réponses développementales et physiologiques, et dans la réponse immunitaire. *Bs3* est directement induit par le TALE *AvrBs3* de *X. euvesicatoria*, conduisant à une HR (Römer et al. 2007).

En ce qui concerne le gène *Bs4C*, il est induit par le TALE *AvrBs4* de *X. euvesicatoria* et est le premier gène *E* à avoir été identifié par une approche de transcriptomique, combinée à de la prédiction de cible (Strauß et al. 2012). Ce gène est présent chez les plantes résistantes (*Bs4C-R*) et

sensibles (*Bs4C-S*), et ce qui empêche la fixation de *AvrBs4* au promoteur de *Bs4C-S* s'explique par un polymorphisme de deux nucléotides situé au niveau de son EBE.

- *Xa7*

Xa7 a été identifié à l'origine dans le cultivar de riz DV85 et cartographié finement sur un intervalle d'environ 118,5 kb sur le chromosome 6 (Chen et al. 2008). Ce gène code pour une protéine de 113 aa qui contient des domaines transmembranaires putatifs et qui n'a pas d'homologues chez d'autres plantes. Cette protéine est ancrée dans la membrane du réticulum endoplasmique et son expression ectopique déclenche la mort cellulaire chez les plantes monocotylédones et dicotylédones (Wang 2021). *Xa7* est ciblé par deux TALE, *AvrXa7* et *PthXo3*, et son activation est corrélée à des niveaux élevés de protéines PR et déclenche une HR chez le riz et le tabac en système hétérologue (Chen et al. 2021). De plus, il s'avère que ce gène *R* est plus efficace que d'autres à des températures élevées (Webb et al. 2010). Il a aussi été démontré que le gène *E Xa7* est hautement durable, de part le fait qu'*AvrXa7* joue un double rôle, le premier dans l'avirulence, en ciblant le gène *E Xa7*, et le deuxième dans la virulence, en ciblant le gène *S OsSWEET14* (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010; Chen et al. 2010). *AvrXa7* est considéré comme un facteur de virulence important, car distribué dans diverses souches de *Xoo* (Hopkins, 1992 ; Yang et al., 2000), cependant certaines souches isolées, perdant la capacité d'induire la résistance associée à *Xa7*, ont été rapportées comme faiblement virulentes, vraisemblablement en raison de mutations dans *AvrXa7* (Vera Cruz et al. 2000) **(pour plus de détails voir paragraphe V.5.a)**.

- *Xa10*

Xa10, qui confère une résistance à certaines races de *Xoo* des Philippines, a été identifié pour la première fois à partir du cultivar de riz Cas 209 (Lee et al. 2003; Gu et al. 2008). Ce gène, localisé sur le long bras du chromosome 11, code pour une protéine de 126 aa à quatre hélices transmembranaires qui forme des hexamères (Yoshimura et al. 1995; Tian et al. 2014), Lorsque *Xa10* est induit par le TALE *AvrXa10* de *Xoo*, la protéine se localiserait au niveau du réticulum endoplasmique de la cellule hôte et serait associée, dans un contexte de résistance, à l'augmentation de calcium dans le cytoplasme, ce qui activerait la mort cellulaire programmée. *Xa10* est actif à tous les stades de développement (Tian et al. 2014), et contrairement à *Xa27* et *Bs4C-R*, sa séquence codante est absente dans les variétés sensibles. Cependant, des séquences apparentées sont trouvées dans d'autres variétés, incluant celle de *Xa23* (Wang et al. 2015a).

- *Xa23*

Un autre gène exécuteur *Xa23*, isolé d'une espèce de riz sauvage, *O. rufipogon*, confère un spectre de résistance extrêmement large aux souches de *Xoo* isolées de différentes régions, à tous les stades de croissance du riz. *Xa23*, situé sur le chromosome 11, code pour une protéine de 113 aa qui partage 50% d'identité avec *XA10*, et dont des hélices transmembranaires sont prédites (Wang et al. 2015a). *XA10* et *XA23* possèdent tous deux un motif de fonction inconnue composé de cinq résidus d'aa (EDDEE et DNDDD, respectivement) à l'extrémité C-terminale (Tian et al., 2014). L'altération du motif ED dans *XA10* abolit l'activité HR (Tian et al., 2014). Par ailleurs, il a été démontré qu'en réponse à l'activation transcriptionnelle par *AvrXa23*, *Xa23* déclenche une HR chez le riz, le tabac et la tomate, mais le mécanisme d'activation de la mort cellulaire programmée reste encore inconnu. Comme *Xa27*, *Xa23* partage la même séquence codante que l'allèle sensible *xa23*. Toutefois, il diffère de ce dernier par un polymorphisme de 7pb dans sa région promotrice, entraînant l'induction de *Xa23*, mais pas de *xa23*, par *AvrXa23* (Wang et al. 2015a). *AvrXa23* s'est avéré être fortement conservé dans les populations de *Xoo* testées ce qui explique son large spectre d'efficacité (Wang et al. 2014a).

c) *Xa1/Xo1* et *Bs4C* : des exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant

Deux exceptions parmi les gènes de résistance TALE-dépendant sont connues à ce jour, les gènes *Bs4* et *Xa1* de la tomate et du riz respectivement, qui codent pour des NB-LRR (Yoshimura et al. 1998; Schornack et al. 2004). Ces derniers ne sont pas induits par les TALE, et reconnaissent ces ET3 indépendamment de leur séquence en RVD et de leur domaine d'activation de la transcription (AD). *Bs4* code pour une protéine TIR-NB-LRR qui est induit de façon constitutive chez la tomate, et dont l'expression n'augmente pas même en présence de *X. euvesicatoria*. Cette protéine NB-LRR perçoit *AvrBs4* dans le cytoplasme de la cellule, conduisant à une HR (Ballvora et al. 2001; Schornack et al. 2004, 2005). *Xa1*, quant à lui, a été le premier gène NB-LRR décrit comme un gène *R* actif contre une maladie bactérienne chez le riz (Yoshimura et al. 1998). Ce NB-LRR contient un domaine zfBED en N-terminal et six répétitions en tandem hautement conservées dans la région C-terminale, qui seraient responsables de la reconnaissance des TALE (Yoshimura et al. 1998; Read et al. 2020a). Plusieurs TALE de *Xoo*, incluant *PthXo1*, *Tal4* et *Tal9d* de la souche PXO99^A, ont été exprimés individuellement dans une souche mutante de PXO99^A ne contenant aucun TALE. Ces souches mutantes ont ensuite été testées sur des variétés portant le gène *Xa1*, telle que IRBB1, et ont été reconnues pour entraîner une HR (Ji et al. 2016). On connaît peu de choses sur le mécanisme de déclenchement de cette HR, mais il a été démontré que *Xa1* agit à l'intérieur du noyau (Figure 16.b, (Ji et al. 2016). Toujours chez le riz un autre gène nommé *Xo1*, allélique de *Xa1*, a été identifié en réponse aux souches Africaines de *Xoc*, agent causal de la BLS, et fonctionne

de façon similaire à *Xa1* (Triplett et al. 2016). *Xo1* est une protéine de type NB-LRR caractérisée par une région N-terminale qui comprend aussi un domaine zfBED et cinq répétitions en tandem hautement conservées (Read et al. 2020a, b). Ce gène déclenche une HR en présence des TALE de *Xoo* et *Xoc*. Il a été démontré que 3,5 répétitions minimum peuvent suffire à la reconnaissance d'un TALE et que cette dernière est abolie en l'absence de la région N-terminale (comme pour *Xa1* et *Bs4*) (Triplett et al. 2016). Récemment d'autres allèles de *Xa1* et *Xo1* ont été caractérisés dans plusieurs variétés de riz, nommés *Xa2*, *Xa14*, *Xa31(t)* et *Xa45(t)* (Ji et al. 2020; Zhang et al. 2020). L'analyse de ces allèles fonctionnels a mis en évidence l'absence systématique d'un motif "intervenant" présent dans les allèles non fonctionnels, ainsi que des différences dans le nombre de répétitions en tandem centrales (4 à 7) qui pourraient expliquer les différences dans leur activité (Zhang et al. 2020). Un criblage phénotypique pour la résistance de type *Xa1* dans 87 accessions de riz a révélé sa présence dans 16 d'entre elles, y compris différentes espèces de riz sauvages et cultivées telles que *O. glaberrima*, *O. nivara* et *O. sativa* (Ji et al. 2020). Une étude complémentaire sur plus de 500 accessions de *O. sativa* a révélé que les allèles de *Xa1* étaient présents chez les sous-espèces *aus*, *indica*, *japonica* tempérées et tropicales (Zhang et al. 2020). En 2016, 2 équipes ont découvert en parallèle deux TALE interférant/tronqués (iTALE/truncTALE) (Tal3a et Tal2h respectivement identifiés chez *Xoo* et *Xoc*) ayant la capacité de supprimer la résistance médiée par *Xa1* et *Xo1* (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). **Ce cas particulier de contournement de la résistance sera détaillé dans le paragraphe suivant (voir V. 5. a)).**

5. Les différents cas de contournement de la résistance par *Xoo*

Comme expliqué précédemment (paragraphe I.4.), le contournement de la résistance, aussi appelée ETS, est une stratégie mise en place par l'agent pathogène pour détourner la PTI et/ou l'ETI, afin de favoriser le développement des symptômes (Jones and Dangl 2006). Ces dernières années plusieurs études ont rapporté différents subterfuges mis en place par les souches de *Xoo* leur permettant de déjouer des gènes de résistance majeurs (Vera Cruz et al. 2000; Ji et al. 2016; Read et al. 2016; Quibod et al. 2020).

a) Contournement de la résistance *Xa4*: expansion de la race 2

La révolution verte ayant remplacé les variétés traditionnelles de riz par des variétés à haut rendement, une pression de sélection uniforme sur les populations de pathogènes a été créée, rendant leur évolution plus rapide. Récemment, Quibod et ses collaborateurs (2020) ont analysé un registre historique unique de pathogènes, afin d'évaluer l'impact d'un gène de résistance majeur, *Xa4*, dans la structure de la population de *Xoo* collectées aux Philippines sur une période de plus de 40 ans (Quibod et al. 2020). Après le déploiement de *Xa4* au début des années 1960, l'émergence de

groupes de pathogènes virulents a été associée par Mew et ses collaborateurs (1992) à l'adoption croissante de variétés de riz portant *Xa4*, qui ont atteint 80 % de la surface totale plantée (Mew 1992). L'analyse des génomes entiers a suggéré que les souches de *Xoo* de la race 2, contournant la résistance *Xa4*, ont développées différents mécanismes d'échappement, reposant sur des mutations telles que le décalage du cadre de lecture, une substitution non synonyme, ou encore un polymorphisme d'expression. Ces mutations toucheraient des fonctions de pathogénicité connues telles que le système de sécrétion, la dégradation de la paroi cellulaire, la détoxification des espèces réactives de l'oxygène et la production de lipopolysaccharides (Quibod et al. 2020).

b) Contournement de la résistance *Xa7*: expansion de la race 9b

Vera Cruz et ses collaborateurs (2000) ont évalué au champs l'adaptation de souches de *Xoo* avirulentes sur des lignées quasi-isogéniques de riz portant les gènes de résistance *Xa4*, *Xa7* et *Xa10* individuellement, et ceux sur trois années, sur deux sites endémiques de la BLB aux Philippines. De ces tests en sont ressorties les conclusions suivantes: sur IR24, variété sensible, ainsi que sur IRBB4 (portant *Xa4*) et IRBB10 (portant *Xa10*), le développement de la maladie est sévère. Au contraire sur IRBB7 (portant *Xa7*) peu de symptômes sont observés. Ces résultats suggèrent alors que *Xa7* reste effectif, dans une moindre mesure, contre les souches de *Xoo* présentes dans ces régions portant *avrXa7* (Vera Cruz et al. 2000). Les souches isolées sur IRBB7 regroupent diverses sous-classes de *Xoo* de la race 9, qui est virulente sur IRBB7. La race 9 se divise en plusieurs sous-groupes allant de la race 9a à 9d, déterminés en fonction i) de la longueur des lésions qu'elle provoque sur IRBB7, ii) de la présence ou absence du système de modification de la restriction *XorI* et iii) de la présence ou l'absence du fragment BamHI correspondant à *avrXa7*. Les souches de la race 9a et 9d n'ont plus la possibilité d'induire *Xa7* dû à des réarrangements génétiques indéterminés ayant provoquer un polymorphisme au locus *avrXa7*, ce qui leur permet de contourner la résistance médiée par *Xa7*. Concernant les souches de la race 9c, elles présentent des mutations à l'extrémité 3' de l'allèle *avrXa7*, en comparaison avec la version connue de *avrXa7*, ce qui fait que comme les souches de la race 9a et 9d elles évitent la résistance médiée par *Xa7*. Et pour finir, les souches de la race 9b possèdent une version intacte de l'allèle *avrXa7* et provoquent de la maladie elles aussi sur IRBB7. Toutefois, Vera Cruz et ses collaborateurs suggèrent que l'agressivité réduite de ces souches sur IRBB7, en comparaison avec les souches des races 9a, 9c et 9d, leur a permis de se maintenir au champs année après année (Vera Cruz et al. 2000). En 2016, Quibod et ses collaborateurs décrivent l'émergence de la race 9b, qui est devenue le groupe le plus répandu après les épidémies de 1992 aux Philippines. Contrairement à ce qui semble être à l'origine de l'expansion de la race 2 (contournement de *Xa4*), pour Quibod et ses collaborateurs il semble très peu probable que le déploiement d'un seul gène de résistance puisse expliquer l'expansion de la race

9b dans tout l'archipel des Philippines. Outre l'aptitude apparente de la race 9b, ils supposent que des changements dans les modes de culture, l'utilisation d'engrais ou des changements environnementaux peuvent avoir contribué à son expansion (Quibod et al. 2016). Cependant à ce jour, le mécanisme d'évitement de la résistance médiée par *Xa7* par les souches de la race 9b, qui possèdent toujours *avrXa7*, reste encore inconnu. Une hypothèse a été émise toutefois, et un supposé nouveau TALE tronqué pourrait être impliqué dans l'évitement de cette résistance (communication personnelle de Perez-Quintero Alvaro Luis).

c) Contournement de la résistance *Xa1/Xo1* : les TALE interférant/tronqués

Parmi la famille des TALE il existe certains effecteurs, caractérisés par des délétions et l'absence de certains domaines fonctionnels, qui jouent un rôle important dans la pathogénicité sans impliquer d'activation transcriptionnelle. Cette catégorie de TALE, connus sous le nom de iTALE (pour "interfering TALE") ou truncTALE (pour "truncated TALE"), ont été rapportés jusqu'à présent uniquement chez des souches de *Xoo* et *Xoc* Asiatiques, respectivement. Leur nom respectif provient de leur rôle d'interférence dans la reconnaissance des TALE par les protéines R de l'hôte, ou encore de leur architecture de TALE tronqué. La différence structurelle entre les TALE classique et les iTALE/truncTALE se base des délétions au niveau de la région N-terminale (après les 306 premiers nucléotides, préservant ainsi le signal d'exportation), ainsi qu'au niveau de la région C-terminale où certains NLS sont encore présents mais ce qui n'est plus le cas pour le domaine d'activation. (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). En l'absence d'iTALE/truncTALE, les NB-LRR *Xa1* ou *Xo1* reconnaissent les TALE et déclenchent la résistance (Figure 16.b). Inversement, l'injection d'un iTALE/truncTALE dans la cellule hôte par l'agent pathogène permet aux TALE traditionnels d'éviter la reconnaissance médiée par *Xa1* ou *Xo1* et d'entraîner le déclenchement ultérieur de la maladie (Figure 16.c, (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). Read et ses collaborateurs (2020) ont mis en avant grâce à une expérience de co-immuno-precipitation (Co-IP) l'interaction du TruncTALE Tal2h avec la protéine NB-LRR *Xo1*. Cependant, si cette interaction est directe ou non reste à être déterminé, et conduit à émettre l'hypothèse que les TruncTALE/iTALE sont en capacité d'empêcher la reconnaissance des TALE par les NB-LRR *Xo1/Xa1*. Toutefois, l'interaction entre *Xo1* et les TALE traditionnels n'a pu être démontré par Co-IP ; ceci pourrait être la conséquence d'une interaction trop transitoire, ou instable, ou bien encore que le phénotype de HR ne permet pas de l'observer (Read et al. 2020b).

6. Les applications des TALE en science

a) Les outils bioinformatiques développés

i. Prédiction des cibles de TALE

Des logiciels bioinformatiques ont été développés depuis la découverte du code TALE, permettant de prédire les cibles potentielles des TALE.

Target Finder est un outil de la suite TAL Effector Nucleotide Targeter (TALE-NT) (<http://tale-nt.cac.cornell.edu/> ; Doyle et al. 2012), qui identifie les sites de liaison potentiels pour un TALE avec une séquence RVD spécifiée par l'utilisateur, en utilisant une matrice de poids de position basée sur les fréquences d'association RVD-nucléotide observées dans les TALE naturels (Doyle et al. 2012). La version web de l'outil possède des génomes et des séquences promotrices pour plusieurs organismes modèles préchargés pour la recherche, mais il accepte également les séquences téléchargées ou collées dans une zone de texte sur le site au format FASTA.

Talvez (<http://bioinfo-prod.mpl.ird.fr/cgi-bin/talvez/talvez.cgi>) recherche les sites de liaison possibles à l'aide d'une matrice de poids de position (PWM) similaire à celle utilisée par Target Finder (Pérez-Quintero et al. 2013). Il diffère de Target Finder en attribuant à certains RVD rares les mêmes comptes d'observation que le RVD commun avec le même résidu en 13ème position, connu pour être le seul déterminant de la spécificité de liaison TALE-ADN. Plusieurs séquences promotrices végétales et fongiques sont préchargées sur le site pour la recherche, ainsi qu'un ensemble de séquences en RVD et un ensemble de séquences nucléotidiques formatées en FASTA dans lesquelles il est possible de rechercher les cibles potentielles de ces chaînes de RVD.

TALgetter (<http://www.jstacs.de/index.php/TALgetter>) fait partie du cadre Jstacs (Grau et al. 2012) et identifie les sites de liaison potentiels en utilisant un modèle de mélange local (Grau et al. 2013b). Dans ce modèle, en plus d'une probabilité pour chaque RVD de s'apparier avec chaque nucléotide, chaque RVD est considéré comme ayant une "importance", indiquant la probabilité qu'il interagisse avec l'ADN. TALgetter accepte en entrée un fichier FASTA de séquences d'ADN pour rechercher des sites de liaison, et la séquence RVD d'un seul effecteur TAL pour interroger les séquences d'ADN. Les génomes de plusieurs animaux modèles, du riz et d'*A. thaliana* sont préchargés pour la recherche, ainsi que les séquences promotrices du riz.

ii. Design des TALE

La séquence en RVD étant modifiable à souhait par des techniques de clonage appropriées, cette découverte a permis le développement de TALE artificiels (ArTALE ou dTALE pour "designerTALE"). Dessinés pour se lier de façon spécifique à une EBE d'intérêt, les ArTALE permettent d'induire n'importe quel gène et représentent un outil idéal pour comprendre le rôle des

gènes de résistance et de sensibilité chez l'hôte. Pour aider à la conception de ces ArTALE/dTALE des outils bioinformatiques ont été développés.

TAL Effector Targeter par exemple, conçoit des réseaux de répétitions (RVD) pour cibler des séquences d'ADN particulières. Il est disponible à la fois en tant que programme open source téléchargeable et en tant qu'outil web faisant partie de la suite TALE-NT (Doyle et al. 2012). Une caractéristique utile de TAL Effector Targeter est sa capacité à évaluer la spécificité des TALE conçus en prédisant les sites de liaison dans la séquence cible prévue, ainsi qu'à indiquer les cibles non désirées ("off-targets").

L'outil d'assemblage de séquences de plasmides TAL (ou "**TAL Plasmids Sequence Assembly Tool** ") (<http://bit.ly/assem-bleTALsequences>) est un site web développé par le laboratoire Bao de l'Institut de technologie de Géorgie qui génère les séquences d'ADN plasmidique nécessaires pour fabriquer des constructions de TALE en utilisant différentes méthodes d'assemblage.

iii. La suite QueTAL

La suite QueTAL a été développée pour offrir des outils sur mesure pour la comparaison des gènes *tal* : DisTAL et FuncTAL. Ces outils permettent d'aligner et de classer les séquences de gènes *tal* en fonction de leur région centrale de répétition (Pérez-Quintero et al. 2015).

Le programme DisTAL considère chaque répétition d'un TALE comme une unité, il transforme alors la séquence d'un TALE en une séquence de répétitions codées et fait des alignements par paire entre plusieurs séquences, afin d'inférer des relations phylogénétiques entre les gènes et construire des arbres. L'algorithme utilisé pour comparer les séquences était initialement conçu pour comparer les séquences microsatellites (ARLEM version 1.0, (Abouelhoda et al. 2010). Le programme FuncTAL, quant à lui, a pour but de trouver des TALE ayant des capacités de liaison à l'ADN similaires. Il calcule les corrélations entre les matrices de poids de position de la séquence d'ADN cible potentielle, prédite à partir de la séquence en RVD, et construit des arbres basés sur ces corrélations. Ensemble, ces programmes ont pour but d'aider les chercheurs à déduire les relations évolutives et fonctionnelles au sein et entre les groupes d'effecteurs TAL (Pérez-Quintero et al. 2015).

Par exemple, l'outil DisTAL a été utilisé par Lang et ses collaborateurs (2019) pour une étude de génomique comparative, ce qui leur a permis de regrouper les souches de *X. oryzae* pv. *leersiae* et de *Xoo* Africaines dans un même sous-groupe, comprenant également des *Xoc*. Cet outil a également permis de classer les TALE de *X. oryzae* pv. *leersiae* en 12 groupes (Lang et al. 2019).

b) TALE et édition de génome

Les TALE accompagnés d'autres protéines ont été utilisés non seulement pour l'activation ciblée de gènes, comme décrit précédemment, mais aussi pour la répression de gènes, la modification de la chromatine, le marquage de la chromatine pour la visualisation et la capture (Miyanari et al. 2013; Byrum et al. 2013; Fujita et al. 2013), et plus largement, pour l'édition du génome, en tant que TALE nucléases (TALEN pour "TAL Effector Nuclease") (Voytas and Joung 2009; Bogdanove and Voytas 2011). La technologie TALEN est un autre outil important issu de la découverte du code TALE, qui permet entre autres de créer des cassures double-brin dans l'ADN à un endroit précis du génome, quant fusionné à un domaine nucléase (e.g. FokI) (Voytas and Joung 2009; Bogdanove and Voytas 2011). La conception des TALEN demandant certaines exigences, c'est pourquoi plusieurs outils informatiques ont été développés pour aider à la conception, ainsi qu'à l'assemblage et à la prédiction des cibles non désirées (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009; Christian et al. 2010; Miller et al. 2010; Streubel et al. 2012; Meckler et al. 2013).

TALEN Targeter, qui fait partie de la suite d'outils TALE-NT (Doyle et al. 2012), conçoit des TALEN qui ciblent des séquences spécifiées par l'utilisateur. Une caractéristique clé de TALEN Targeter est sa capacité à évaluer la spécificité des TALEN conçus en prédisant tous les sites cibles potentiels dans la séquence d'entrée. **TALENoffer** (<http://www.jstacs.de/index.php/TALENoffer>) est une extension du modèle TALgetter qui prédit les sites cibles pour les TALEN (Grau et al. 2013a). D'autres logiciels de design de TALEN sont disponibles : **Mojo Hand** (<http://talendesign.org/>) (Neff et al. 2013), **E-TALEN** (<http://www.e-talen.org/>) (Heigwer et al. 2013), **SAPTA** (http://baolab.bme.gatech.edu/Research/Bioinformatic-Tools/TAL_targeter.html) (Lin et al. 2014), et **PROGNOS** (<http://baolab.bme.gatech.edu/Research/BioinformaticTools/prognos.html>) qui prédit les cibles non désirées ("off-targets") des TALEN et fournit des séquences d'amorces pour le séquençage d'amplicons à sur la cible après le traitement TALEN (Fine et al. 2014). Il est hébergé sur le même site web que SAPTA mais n'est pas intégré à SAPTA.

En 2012, une nouvelle découverte vient révolutionner la biologie : le mécanisme CRISPR-Cas9 de défense bactérienne contre les virus (Jinek et al. 2012). Alors que l'outil de biotechnologie TALE, TALEN, est en plein essor, l'utilisation du système CRISPR-Cas9, entre autres pour éditer les boîtes cibles des TALE, monte en flèche, provoquant une véritable révolution dans le domaine de la biologie. La nucléase Cas9 est contrôlée dans sa spécificité de cible par l'intégration d'un ARN guide. Dans le système naturel, cet ARN est formé de deux composants exprimés à partir du locus CRISPR ("Clustered Regulatory Interspaced Short Palindromic Repeat") : le crRNA contenant la séquence cible et un tracrRNA impliqué dans le traitement du pré-crRNA et l'assemblage du

complexe Cas9. Des méthodes alternatives ont été explorées pour fusionner ces deux composants et les exprimer à partir d'un seul gène, créant ainsi la séquence de l'ARN guide ou ARNsg ("single guide") (Hsu et al. 2013). Au sein de celle-ci, une région de 20 pb, appelée espaceur, guide la nucléase Cas9 vers une séquence cible complémentaire, appelée protospacer. La spécificité de la cible est modifiable en changeant la séquence de l'espaceur. Depuis CRISPR-Cas9, les TALEN semblent être devenus un lointain souvenir dans l'édition du génome. Néanmoins, les technologies basées sur les TALEN continuent d'être utilisées et trouvent une place dans les applications où elles offrent des avantages par rapport au système breveté CRISPR-Cas9 (De Lange et al. 2014; Lebar and Jerala 2016).

VI. *Xanthomonas oryzae*

1. L'espèce *X. oryzae*

a) Origines et répartitions

L'espèce *X. oryzae* est composée de plusieurs pathovars/sous-espèces, dont les origines et répartitions sont variées. La BLB ("Bacterial Leaf Blight" ou bactériose vasculaire) a été caractérisée pour la première fois dans la préfecture de Fukuoka au Japon en 1884. On pensait à l'origine qu'elle était causée par un sol acide (Tagami and Mizukami 1962; Mew 1989). En 1909, des bactéries ont été isolées des gouttes de rosée de feuilles de riz infectées, et la maladie a été reproduite en inoculant ces gouttes à des feuilles saines. Peu après, son étiologie en tant que maladie bactérienne a été établie, et l'agent causal a été isolé et classé comme *Bacillus oryzae* (cité par Mizukami and Wakimoto 1969). La bactérie a été rebaptisée *Pseudomonas oryzae*, puis *Xanthomonas oryzae* (Ishiyama, 1922). En 1978, elle a été reclassée sous le nom de *X. campestris* pv. *oryzae* (Dye, 1978). Concernant la BLS ("Bacterial Leaf Streak" ou bactériose à stries foliaires) cette maladie bactérienne a été découverte pour la première fois aux Philippines en 1918 et nommée "bacterial stripe" (cité par Ou, 1972) bien qu'elle ait été appelée à tort "bacterial blight" pendant plusieurs années. En 1957, Fang et ses collaborateurs caractérisent de nouveau la maladie et la distinguent de la bactériose vasculaire; elle est nommée bactériose à stries foliaires. L'agent causal de cette maladie reçoit alors le nom de *Xanthomonas oryzicola* (cité par Ou, 1972). L'agent pathogène a ensuite été renommé *X. translucens* f. sp. *oryzae* (cité par Ou, 1972), puis *X. translucens* f. sp. *oryzicola* et enfin *X. campestris* pv. *oryzicola* (Ou 1985). En 1990, les deux pathogènes, de la BLB et BLS, ont été élevés à leur statut actuel de nouvelle espèce et nommés *X. oryzae* pv. *oryzae* et *X. oryzae* pv. *oryzicola* (Swings et al. 1990; Goto 1992). Ces pathovars appartiennent à la famille des *Xanthomonadaceae* et sont de la classe des *Gammaproteobacteria*. La BLB et la BLS sont endémiques dans une grande partie de l'Asie et dans certaines parties de l'Afrique de l'Ouest. La BLB est répandue dans les zones tropicales et tempérées, et a également été signalée en Australie,

en Amérique latine et dans les Caraïbes (Mew 1993). En Afrique, la BLB a été signalée pour la première fois au Mali en 1979 (Buddenhagen 1979), puis elle a ensuite été rapportée au Sénégal, au Niger, au Nigeria, au Gabon, en Mauritanie, au Bénin, au Cameroun, et plus récemment au Burkina Faso (Trinh 1980; Reckhaus 1983; Manser 1984; Jones et al. 1991; Gonzalez et al. 2007). La BLS quant à elle, est limitée en grande partie à l'Asie tropicale et subtropicale, y compris le sud de la Chine, la Thaïlande, la Malaisie, l'Inde, le Vietnam, les Philippines et l'Indonésie, mais elle touche également les régions rizicoles du nord de l'Australie (Singh et al. 1980; Ou 1985; Sigee 1993; Awoderu et al. 2008) et est devenue récemment un problème important dans certaines parties de l'Afrique de l'Ouest (Wonni et al. 2011). Depuis ces dernières années la BLS a aussi été identifiée à Madagascar (Poulin et al. 2014), en Ouganda (Afolabi et al. 2014), au Burundi (Afolabi et al. 2016) et en Côte d'Ivoire (Diallo et al. 2021).

Bien que *X. oryzae* ne soit pas considérée comme endémique aux Etats-Unis (Niño-Liu et al. 2006), une bactérie semblable a été isolée du riz et d'une graminée pérenne *Leersia hexandra* dans des rizières du Texas et de Louisiane en 1987 (Jones 1989). Un projet de séquençage génomique de deux souches américaines de *Xanthomonas* (X11-5A (Texas) et X8-1A (Louisiane)) a révélé que les souches américaines forment un nouveau clade au sein de l'espèce *X. oryzae*, distincte de toutes les souches connues pour causer des pertes de rendement importantes. Les souches américaines sont peu virulentes sur le riz (Jones 1989) et génétiquement distinctes des pathovars caractérisés jusqu'alors de *X. oryzae* (*Xoo* et *Xoc*) (Ryba-White et al. 1995). Il a été démontré que la plupart des souches américaines sont porteuses d'un ou plusieurs plasmides et sont dépourvues de TALE (Ryba-White et al. 1995). Ces résultats ont conduit à supposer que les souches américaines de *Xanthomonas* étaient très divergentes de celles trouvées en Asie et n'avaient pas pénétré aux États-Unis dans un passé récent.

Une autre espèce, *X. campestris* pv. *leersiae* (*Xcl*) renommée ultérieurement *X. oryzae* pv. *leersiae* (*Xol*), a été décrite pour la première fois en 1957 (Fang et al. 1957). Cette bactérie provoque une strie bactérienne sur *Leersia hexandra*, une herbe commune que l'on trouve dans le sud des États-Unis, en Amérique du Sud, en Afrique et en Asie. Il est intéressant de noter que cette plante et d'autres graminées de ce genre, comme *Leersia sayanuka*, *Leersia oryzoides* et *Leersia japonica*, sont sensibles à *Xoo* (Noda and Yamamoto 2008) et peuvent servir de réservoirs pour l'inoculum (Gonzalez 1991). Par rapport à la souche virulente de *Xoo*, PXO99^A, les souches *Xol* sont moins agressives sur le riz, et provoquent des stries foliaires moins étendues sur plusieurs variétés de riz. Les études de Lang et ses collaborateurs montrent que *Xol* est un pathogène de *Leersia hexandra* et est légèrement pathogène pour diverses variétés de riz, mais qu'elle ne provoque pas de maladie sur l'orge ou le blé, et que certaines variétés de riz présentent une résistance à *Xol* (Lang et al. 2019).

NIL	<i>Xa</i> gene	New <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> races									Effectiveness of resistance (%)	
		A3	A4	A5		A6		A7	A8	A9	W- <i>Xa23</i>	N- <i>Xa23</i>
				A5-1	A5-2	A6-1	A6-2					
IR 24	<i>Xa18</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 1	<i>Xa1</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	67	57
IRBB 3	<i>Xa3</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	89	86
IRBB 4	<i>Xa4</i>	R	R	R	R	S	S	R	S	S	56	57
IRBB 5	<i>xa5</i>	R	R	S	S	S	S	S	S	S	22	29
IRBB 7	<i>Xa7</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 8	<i>xa8</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 10	<i>Xa10</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 11	<i>Xa11</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 13	<i>xa13</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 14	<i>Xa14</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 21	<i>Xa21</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	11	14
IRBB 23	<i>Xa23</i>	R	S	S	R	R	S	S	S	S	33	–
Strains with <i>Xa23</i> (n)		5	6	7	3	2	11	2	5	4	–	–
Strains without <i>Xa23</i> (n)		5	6	10		13		2	5	4	–	–

Tableau 3. Races de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Africaines sur 12 lignées de riz quasi-isogéniques (NILs) contenant un seul gène de résistance dans le fond génétique IR24.

Quarante-cinq souches de *X. oryzae* pv. *oryzae* (41 souches de cette étude et quatre souches de référence) se regroupent en sept races notées A3 à A9. En utilisant *Xa23* dans le criblage des NILs, les races les plus dominantes et les plus hétérogènes (A6 et A5) sont subdivisées en deux sous-clusters de virulence. Chaque race est caractérisée par son profil de virulence sur les NILs et le nombre de souches lui appartenant est indiqué. La capacité des gènes *Xa* à contrôler les différentes races est affichée. W-*Xa23* = avec *Xa23*, N-*Xa23* = sans *Xa23*, R = résistant (longueur des lésions \leq 5 cm), et S = sensible (longueur des lésions $>$ 5 cm). D'après (Tekete et al. 2020).

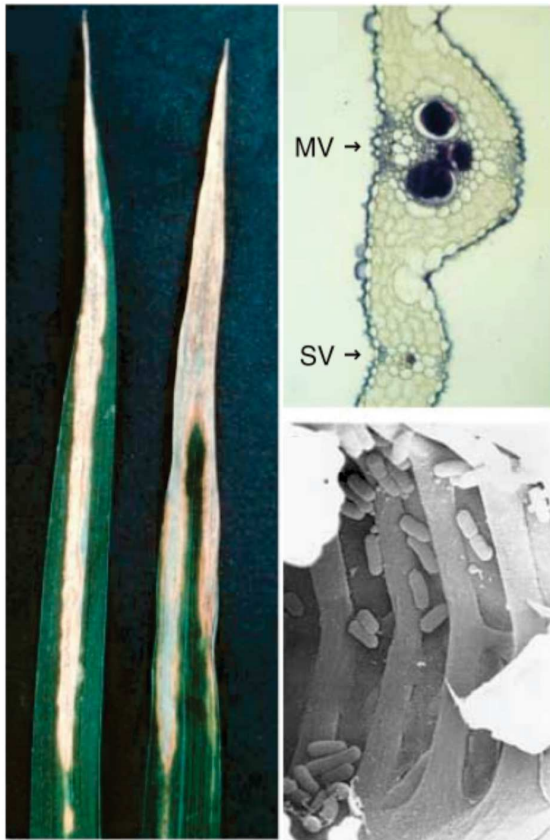
b) Diversité de *X. oryzae*

Les souches de *Xoo* peuvent être classées en différentes races en fonction des phénotypes de résistance observés sur des variétés de riz définies (Gonzalez et al. 2007). Des lignées quasi-isogéniques de riz (NIL également connues sous le nom de lignées IRBB) sont disponibles pour de nombreux gènes de résistance à la BLB, connus également sous le nom de *Xa*, y compris des lignées possédant un ou plusieurs gènes *R* (Ogawa et al. 1991; Huang et al. 1997). Les lignées IRBB ont été construites avec le fond génétique sensible de la variété IR24 (*indica*) dans lequel ont été introgressés les gènes de résistance *Xa* (e.g. les lignées IRBB1, IRBB2, etc, possède respectivement le gène de résistance *Xa1*, *Xa2*, etc). Une collaboration entre l'IRRI (Institut international de recherche sur le riz, Manilla, Philippines) et le Japon a permis d'établir des NIL, comme les IRBB, aussi dans le fond Toyonishiki (*japonica* tempéré), et les deux types de NIL (fond génétique IR24 et Toyonishiki) sont largement utilisées pour la caractérisation des races de *Xoo* (Ogawa 1993). À ce jour, plus de 30 races de *Xoo* Asiatiques ont été découvertes, ainsi que 9 races de souches Africaines de *Xoo* (Tableau 3, (Tekete et al. 2020).

Au laboratoire, les souches des deux pathovars (*Xoo* et *Xoc*) sont identifiées par des méthodes d'inoculation sur des plantes hôtes sensibles et différenciées en fonction du type de symptômes phénotypiques qu'elles présentent (Figure 19, (Yang and Bogdanove 2013). Outre l'observation des symptômes, et pour un diagnostic plus fiable, d'autres outils d'analyse de la diversité inter-espèces ont été développés tels que : la PCR multiplex, le diagnostic par LAMP ("loop-mediated isothermal amplification"), l'utilisation de marqueurs moléculaires de type AFLP, RFLP, RAPD ou encore la technique de MLST ("multilocus sequence typing"). En plus de la discrimination des pathovars, d'autres tests ont été développés pour différencier les souches de *X. oryzae* d'Afrique et d'Asie. En 2015, Poulin et ses collaborateurs développent un outil d'analyse de la diversité et de la structure des populations de *Xoo* : MLVA-16 (Multi locus VNTR Analysis) permettant de discriminer les souches de *X. oryzae*, ainsi que pour la surveillance de la BLB et de la BLS à différentes échelles temporelles et géographiques (Poulin et al. 2015).

En 2019, Lang et ses collaborateurs calculent l'ANI ("average nucleotide identity") entre cinq souches de *Xol* et tous les génomes de *X. oryzae* entièrement séquencés (Rodriguez-R and Konstantinidis 2016; Lang et al. 2019). Cette analyse a montré que les souches de *Xol* sont identiques à 99-100 % les unes aux autres, et qu'elles sont identiques entre 97 % et 99 % aux souches US de *Xo*, aux *Xoc* et aux *Xoo*, et se rapprochant des *Xoc* à 98,5 %. Par ailleurs, les *Xol* sont 76-91% similaires aux autres espèces de *Xanthomonas*. La prédiction computationnelle des ET3 parmi les protéines annotées dans chaque génome a révélé que le répertoire d'ET3 non-TALE de *Xol* ressemble plus étroitement à celui de *Xoc*. Néanmoins, certaines caractéristiques sont uniques à *Xol*. Il a été rapporté que les souches de *Xol* contenaient 12 ou 13 *tal* chacune, ce qui est

*Xanthomonas
oryzae* pv. *oryzae*



*Xanthomonas
oryzae* pv. *oryzicola*

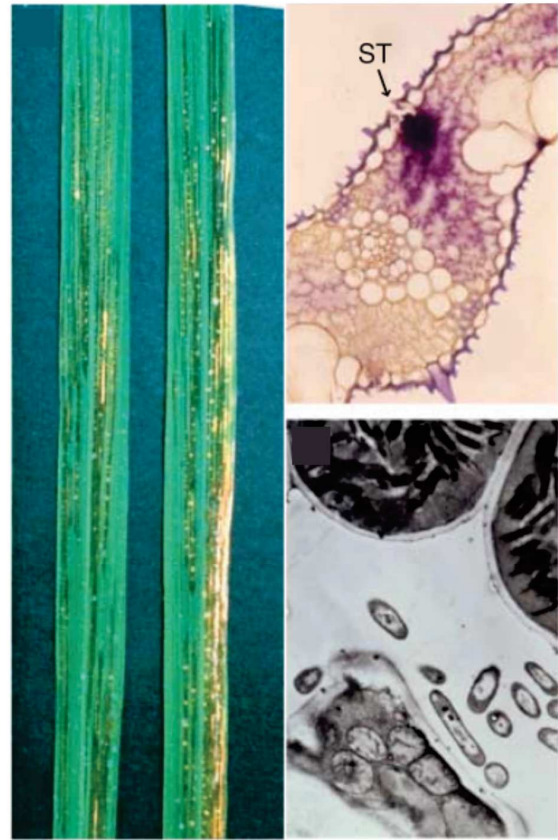


Figure 19. Symptômes typiques provoquées par *Xoo* et *Xoc* sur le riz, et leur localisation cellulaire lors de l'infection.

Spécificité du tissu hôte des pathovars de *Xanthomonas oryzae*. Panel de gauche : Feuilles de riz avec des lésions de bactériose s'étendant le long des nervures à partir de l'extrémité et des bords de la feuille, résultant de l'invasion du xylème via les hydathodes par *X. oryzae* pv. *oryzae*. Coupe transversale d'une feuille de riz infectée par *X. oryzae* pv. *oryzae*, colorée pour montrer l'emplacement des cellules bactériennes, apparaissant en bleu foncé à violet dans les vaisseaux du xylème de la nervure moyenne (MV) et d'une nervure secondaire (SV). Micrographie électronique à balayage de cellules de *X. oryzae* pv. *oryzae* dans un vaisseau du xylème d'une feuille de riz.

Panel de droite : Feuilles de riz présentant des symptômes de stries foliaires causés par la colonisation du tissu internervaire via les stomates par *X. oryzae* pv. *oryzicola*. Coupe transversale d'une feuille de riz infectée par *X. oryzae* pv. *oryzicola* colorée montrant la colonisation bactérienne de la chambre sous-matale et du parenchyme du mésophylle. Stomate (ST). Micrographie électronique à transmission des cellules de *X. oryzae* pv. *oryzicola* dans les espaces intercellulaires du parenchyme mésophylle d'une feuille de riz. D'après (Nino-Liu et al. 2006).

plus que les neuf *tal* par génome trouvés chez les *Xoo* africaines, et moins que ce qui est communément trouvé chez les *Xoc* (22-29 *tal*) et *Xoo* asiatiques (13-20 *tal*). Aucun TALE tronqué n'a été identifié dans les génomes de *Xol*. Par ailleurs, en comparant les régions centrales des TALE présents chez les souches de *Xoo*, *Xoc* et *Xol*, une nouvelle combinaison de RVD "TI", non rapportée précédemment chez d'autres espèces, a été identifiée (Lang et al. 2019).

2. *X. oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

L'agent responsable de la bactériose vasculaire du riz, considérée comme la maladie la plus dévastatrice du riz en Asie, est la bactérie à gram négatif *Xoo*. La BLB peut en effet causer jusqu'à 50 % de perte de rendement en fonction de la variété de riz, du stade de croissance de l'infection, de l'emplacement géographique et des conditions environnementales (Liu et al. 2014). *Xoo* colonise les feuilles via les hydathodes, et/ou via les blessures. Une fois entrée, elle se multiplie dans l'espace intercellulaire sous-jacent et se propage de façon systémique dans le reste de la plante via les vaisseaux du xylème. Les symptômes caractéristiques de la BLB sont des lésions jaunes ou vertes foncées aqueuses puis nécrotiques qui se propagent le long de la feuille au fur et à mesure de l'avancée bactérienne. Ceci entraîne un dessèchement des tissus photosynthétiques affectant le rendement en grain (Niño-Liu et al. 2006). Les TALE sont des facteurs de virulence majeurs au sein de ce pathosystème.

3. Les souches Africaines de *Xoo* vs les souches Asiatiques de *Xoo*

a) Les différences générales entre les souches de *Xoo* Africaines et Asiatiques

La plupart des études sur les souches de *Xoo* ont été réalisées sur les souches Asiatiques. Les souches Africaines de *Xoo* découvertes plus récemment (1980) sont génétiquement éloignées des souches Asiatiques et étroitement apparentées aux bactéries du pathovar *oryzicola* (*Xoc*) (Figure 20). Une caractéristique particulière des *Xoo* Africaines est leur TALome restreint par rapport aux *Xoo* Asiatiques, avec respectivement jusqu'à 9 et jusqu'à 19 copies. Par ailleurs, aucun TALE n'est conservé entre les souches Africaines et Asiatiques (Lang et al. 2019). En 2018, l'analyse comparative du TALome de plusieurs souches Africaines a mis en évidence que, malgré la haute conservation des TALomes africains, plusieurs groupes TALE sont polymorphes au niveau de leur RVD (Figure 21, (Doucouré et al. 2018; Tran et al. 2018). Les *Xoo* Africaines se distinguent également par le nombre et le type de races qu'elles constituent (9 vs >30 pour les Asiatiques), et dont aucune n'a jamais été rapportée en Asie (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020).

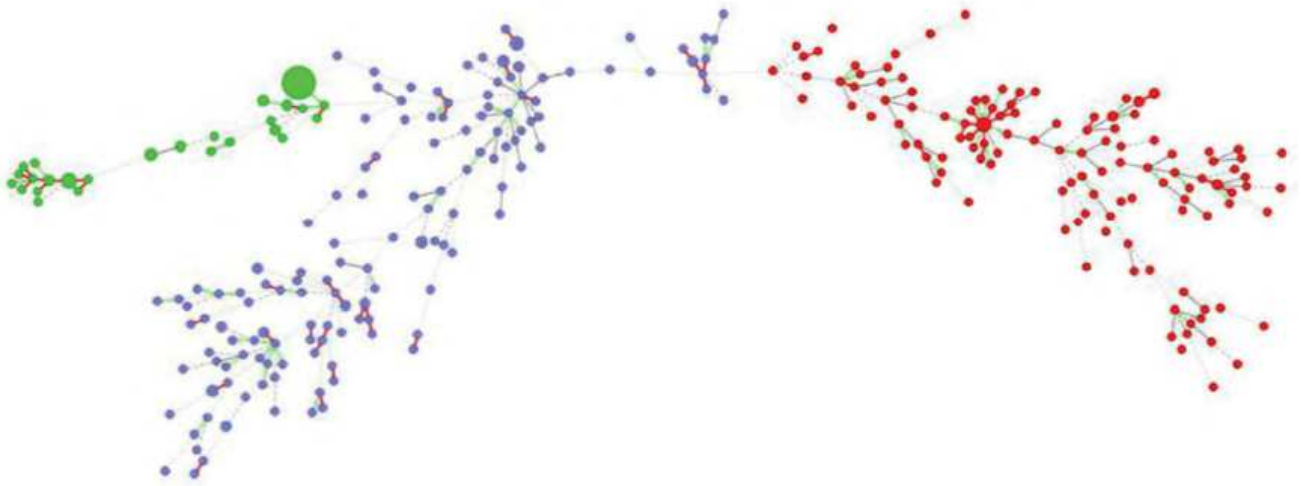


Figure 20. "Minimum spanning tree" d'une collection mondiale de *Xanthomonas oryzae*.

L'outil MLVA16 ("Multi Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis 16 loci panel") a permis l'analyse de 16 locus de *Xanthomonas oryzae* à partir de "variable number tandem repeat" (VNTR). Les cercles sont proportionnels au nombre de souches par haplotype, et cette représentation permet d'observer les distances génétiques des différentes souches de *Xo*. Vert : *Xoo* d'Afrique, rouge : *Xoo* d'Asie et bleu : *Xoc*. Le MST a été généré à l'aide de Bionumerics 7.1. D'après (Poulin et al. 2015).

Bien que différentes sur un bon nombre de traits, les souches Africaines et Asiatiques de *Xoo* déclenchent la maladie chez le riz via le même mécanisme, et l'induction de cibles communes telles que *OsSWEET14* et *OsTFX1* (Figure 18).

b) Déclenchement de la résistance : des cibles diverses

Le pathosystème Riz-*Xoo* constitue un système modèle pour l'étude des interactions plantes-pathogènes au niveau moléculaire. Des recherches intensives au cours de la dernière décennie ont révélé que la résistance et la sensibilité du riz à *Xoo* sont généralement contrôlées par des interactions moléculaires entre les effecteurs de *Xoo* et ses gènes cibles chez le riz. Actuellement, 46 gènes *R* à *Xoo* ont été découverts chez le riz (Cheema et al. 2008; Busungu et al. 2016; Vikal and Bhatia 2017). Ces gènes ont été identifiés à partir de populations mutantes, d'espèces de riz cultivées et sauvages et confèrent une résistance contre différentes souches de *Xoo* (Tableau 4). Sur les 46 gènes, 16 sont récessifs et 12 ont été clonés et caractérisés. Les gènes de résistance identifiés codent pour différents types de protéines qui suggèrent de multiples mécanismes de résistance à *Xoo* (Liu et al. 2011c; Tian et al. 2014). La majorité de ces gènes confèrent une résistance complète, spécifique à la race de l'agent pathogène. Parmi les 12 gènes *R* du riz, qui contrôlent *Xoo*, caractérisés à ce jour, neuf (*Xa1*, *xa5*, *Xa7*, *Xa10*, *xa13*, *Xa23*, *xa25*, *Xa27*, *xa41*) médient la résistance associée aux TALE de l'agent pathogène, et seulement trois (*Xa3/Xa26*, *Xa4* et *Xa21*) codent pour des protéines kinases. *Xa4*, par exemple, est un gène dominant de résistance à la BLB et a été cartographié sur le chromosome 11 en utilisant le marqueur de liaison RM224 (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). Récemment, Hu et al. (2017) ont montré que *Xa4* code pour une protéine kinase associée à la paroi cellulaire ("wall-associated kinase" - WAK) (Hu et al. 2017). L'activation de *Xa4* favorise la synthèse de la cellulose, par augmentation de l'expression du gène codant pour la Cellulose synthase A (*CesA*). Elle empêche aussi le relâchement de la paroi cellulaire inhibant l'expression du gène codant pour des expansines, aboutissant au renforcement de cette dernière. La caractérisation *in vitro* de la protéine XA4 a révélé que son domaine kinase est capable d'autophosphorylation. Par ailleurs, les variétés dans lesquelles a été introgressé *Xa4* ont manifesté une résistance à large spectre et durable, pratiquement à tous les stades végétatifs de la culture. La protéine XA21, quant à elle, a le format classique d'un récepteur kinase, avec un domaine LRR extracellulaire, une région membranaire et un domaine protéique kinase intracellulaire (Ellis and Jones 1998). Ce récepteur reconnaît une protéine sulfatée sur son résidu tyrosine (Y41), nommé RaxX, activant ainsi l'expression de gènes marqueurs des voies de défense, la production de ROS et d'éthylène (Pruitt et al. 2015).

Parmi les neuf gènes qui médient une résistance TALE-dépendante, quatre sont des gènes de type *E* (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*) uniquement induits par les TALE des souches Asiatiques de *Xoo* (Zhu

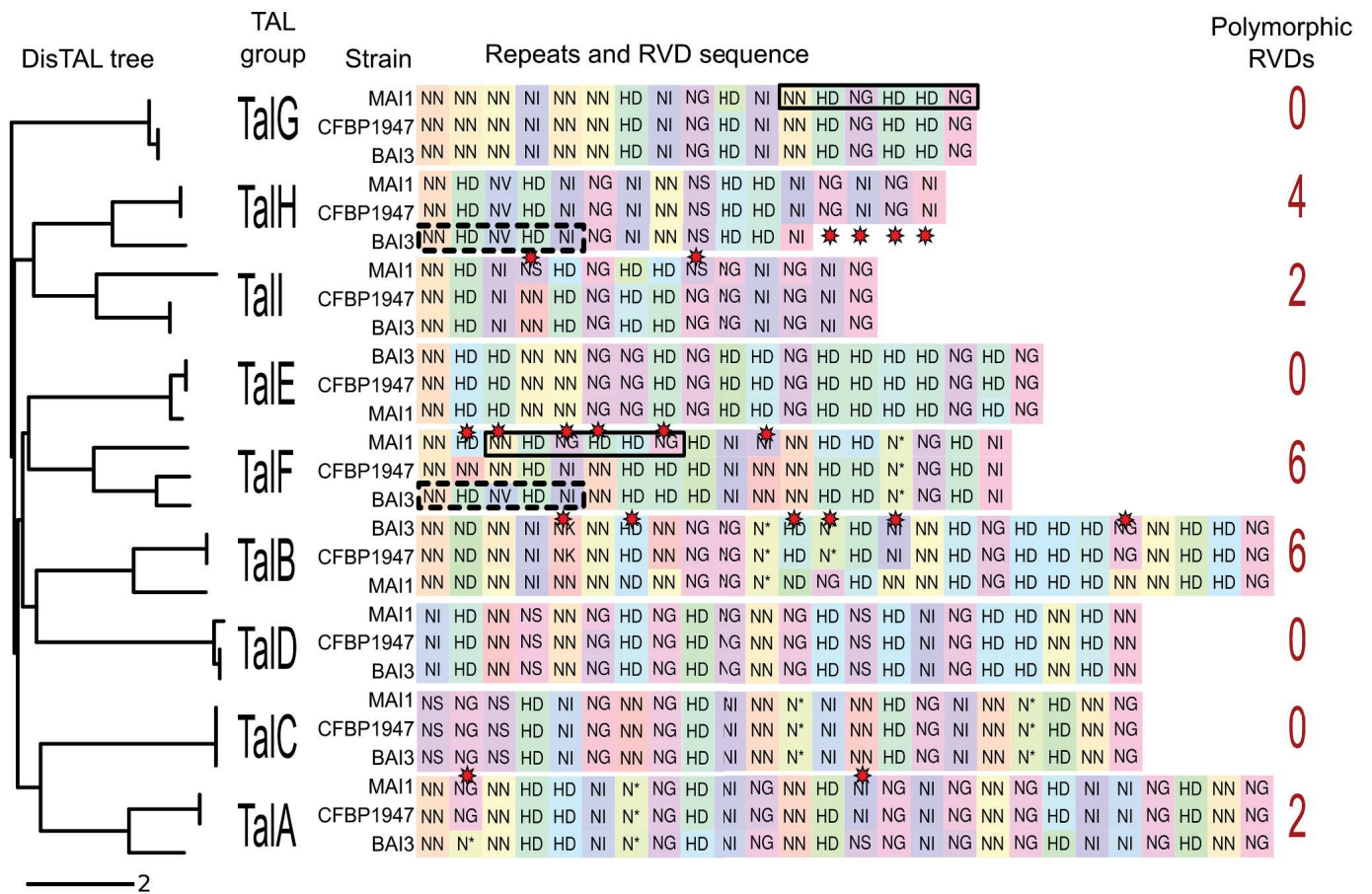


Figure 21. Représentation et alignement des séquences en RVD des TALE des souches Africaines MAI1, BAI3 et CFBP1947 de *Xoo*.

Les alignements en RVD des TALE et variants de chacune des trois souches sont représentés pour chacun des neuf groupes (TalA à TalI). Des couleurs de fond différentes pour un même RVD indiquent que les codons diffèrent. Les étoiles rouges indiquent des polymorphismes de RVD. Les rectangles en trait plein mettent en évidence les répétitions partagées par TalF et TalG de MAI1, ceux en pointillés soulignent ceux qui sont communs à TalF et TalH de BAI3. D'après (Tran et al. 2018).

et al. 1998; Gu et al. 2009; Wang et al. 2014a). Quatre sont des gènes récessifs induisant la résistance par perte de sensibilité (*xa5* (*OsTFIIA γ 5*), *xa13* (*OsSWEET11*), *xa25* (*OsSWEET13*) et *xa41* (*OsSWEET14*) (Römer et al. 2010; Liu et al. 2011c; Hutin et al. 2015b) et un seul est un gène de type NB-LRR (*Xa1*) (Yoshimura et al. 1998; Ji et al. 2016). Le faible nombre de gènes *R* codant pour des NB-LRR dans ce pathosystème est très particulier car les gènes *R* de type NB-LRR sont les principaux acteurs de la résistance à d'autres pathogènes. Par exemple dans le cas de *M. oryzae* avec *Pib* ou encore *Pi-ta*, qui codent pour des protéines NB-LRR reconnaissant respectivement *AvrPib* et *AvrPi-ta* (Liu and Wang 2016).

De manière intrigante, aucun gène *S* qui serait ciblé par les TALE *AvrXa10*, *AvrXa23* et *AvrXa27* des souches Asiatiques de *Xoo* n'a été identifié jusqu'à aujourd'hui. En revanche, *AvrXa7* joue un double rôle dans la sensibilité et la résistance, en induisant à la fois *OsSWEET14* et *Xa7* dans les variétés porteuses de ce dernier (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010). *AvrXa27* et *AvrXa23* sont conservés dans diverses souches de *Xoo* ; par conséquent, *Xa27* et *Xa23* ont été largement appliqués dans les programmes de sélection du riz, et les variétés qui en résultent présentent une résistance à large spectre contre les souches de *Xoo*. Par ailleurs, certains de ces gènes *R* ont été introgressés séparément ou de manière pyramidale chez le riz (Sundaram et al. 2007; Pandey et al. 2012).

Un profilage préliminaire des races de *Xoo* sur les lignées IRBB a rapporté le potentiel de *Xa4*, *xa5* et *Xa7*, ou de gènes co-ségrégeant avec ces derniers, pour contrôler quelques *Xoo* Africaines du Burkina Faso, du Niger et du Cameroun, mais le spectre de résistance de ces gènes doit encore être évalué sur un plus grand ensemble de souches (Gonzalez et al. 2007). Il est intéressant de noter qu'une analyse plus récente d'un panel plus large de souches de *Xoo* du Mali a donné une image différente, soulignant que la NIL portant *Xa3* est capable de contrôler six des sept races dans ce pays, ce qui correspond à 89% des isolats testés (Tableau 3). De plus, *Xa1* apparaît comme un des deux gènes *R* les plus prometteur en termes de spectre de résistance pour la population malienne de *Xoo* (Tekete et al. 2020). En raison de la sélection artificielle et naturelle des gènes de résistance à la BLB, les bactéries continuent d'évoluer. Par conséquent, il est nécessaire de caractériser au mieux de nouvelles sources de résistances afin d'anticiper les contournements bactériens futurs.

Gene R	Chromosome	Localisation (kpb)	Position (cM)	Contrôle <i>Xoo</i>	Remarques	Références
<i>Xa1</i>	4	6,697	31 638 099 - 31 644 795	Asie, (Japon, race 1) et Afrique	Dominant, cloné et caractérisé	(Yoshimura et al. 1998)
<i>Xa2</i>	4	-	-	Asie (Japon, race 2A)	Dominant	(He et al. 2006)
<i>Xa3/Xa26</i>	11	3,414	28 399 360 - 28 402 773	Asie (Philippines, races 1, 2, 6)	Dominant, cloné et caractérisé	(Sun et al. 2004; Xiang et al. 2006)
<i>Xa4</i>	11	-	-	Asie (Philippines, race 1)	Dominant, cloné et caractérisé	(Petpisit et al. 1977)
<i>xa5</i>	5	6,261	437 010 - 443 270	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Petpisit et al. 1977)
<i>Xa6/xa3</i>	11	-	-	Asie (Japon)	Dominant	(Sidhu et al. 1978)
<i>Xa7</i>	6	-	-	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Chen et al. 2021; Luo et al. 2021)
<i>Xa8</i>	7	-	-	Asie	Récessif	Singh et al. 2002
<i>Xa9</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Ogawa 1988)
<i>Xa10</i>	11	0,943	22 203 734 - 22 204 676	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Tian et al. 2014)
<i>Xa11</i>	3	-	-	Asie (Japon, races 1B, 2, 3A, et 5)	Dominant	(Goto et al. 2009)
<i>Xa12</i>	4	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa13</i>	8	2,843	26 725 952 - 26 728 794	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa14</i>	4	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa15</i>	-	-	-	Asie	Récessif	Ogawa 1996
<i>Xa16</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa17</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa18</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa19</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>xa20</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa21</i>	11	3,595	20 802 924 - 20 806 518	Asie (race 6)	Dominant, cloné et caractérisé	(Song et al. 1995)
<i>Xa22(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Kurata and Yamazaki 2006)
<i>Xa23</i>	11	0,943	22 203 734 - 22 204 676	Asie	Dominant, cloné et caractérisé	(Wang et al. 2015)
<i>xa24</i>	2	-	-	Asie	Récessif	Khush and Angeles

						1999
<i>xa25(t)</i>	12	3,254	17 302 073 - 17 305 326	Asie	Récessif, cloné et caractérisé	(Liu et al. 2011)
<i>xa26(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Lee et al. 2007)
<i>Xa27(t)</i>	6	-	-	Asie	Dominant cloné et caractérisé	(Gu et al. 2005)
<i>xa28(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Lee et al. 2007)
<i>Xa29(t)</i>	1	-	-	Asie	Dominant	(Tan et al. 2004)
<i>Xa30(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Cheema et al. 2008)
<i>xa31(t)</i>	4	-	-	Asie	Récessif	(Wang et al. 2009)
<i>xa32(t)</i>	11	-	-	Asie	Récessif	(Zheng et al. 2009)
<i>Xa33</i>	7	-	-	Asie	Dominant	(Natarajkumar and Mishra 2008)
<i>Xa33(t)</i>	-	-	-	Asie	Dominant	Korinsak et al. 2009
<i>xa34(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif	(Chen et al. 2011)
<i>Xa35(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Guo et al. 2010)
<i>Xa36(t)</i>	-	-	-	Asie	Dominant	Miao et al. 2010
<i>Xa38</i>	-	-	-	Asie	Dominant	(Bhasin et al. 2011)
<i>Xa39</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Zhang et al. 2015)
<i>Xa40(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Kim et al. 2015)
<i>xa41(t)</i>	-	-	-	Asie	Récessif, caractérisé	(Hutin et al. 2015b)
<i>xa42</i>	3	-	-	Asie, (Japon race 1, 2A, 2B, 3, 4 et 5)	Récessif	(Busungu et al. 2018)
<i>Xa43(t)</i>	11	27 560 - 27 990	-	Asie	Dominant	(Kim and Reinke 2019)
<i>xa44(t)</i>	11	28 000 - 28 120	-	Asie	Récessif	(Kim 2018)
<i>Xa45(t)</i>	4	-	-	Asie (Japon race 1) et Afrique	Dominant	(Ji et al. 2020)
<i>Xa46(t)</i>	11	-	-	Asie	Dominant	(Chen et al. 2020)

Tableau 4. Gènes de résistance à *Xoo* (*R* et *E*) connus à ce jour.

Tableau adapté de (Chukwu et al. 2019).

Projet de thèse

Les plantes cultivées sont constamment confrontées à de multiples stress biotiques et abiotiques, représentant 17,2 à 30 % des pertes de rendement. Le riz (*Oryza sativa* L.) est l'une des cultures les plus répandues dans le monde et un aliment de base pour la plupart des populations des pays en développement (Ainsworth 2008). *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* représente depuis plusieurs décennies une menace majeure pour sa production en Asie et en Afrique (Liu et al. 2014). Comprendre les éléments qui déterminent l'interaction entre un pathogène et sa plante hôte est d'une importance cruciale pour le développement de stratégies de résistance durable.

L'élucidation du code régissant l'interaction TALE-ADN (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) a permis de grandes avancées dans notre compréhension des mécanismes de résistance et de sensibilité. La possibilité de prédire les cibles des TALE et leur capacité à induire des gènes cibles en font un atout majeur pour la recherche de sources de résistance (e.g. édition du promoteur de gènes *S*, identification de gènes *E*, etc) et l'amélioration des variétés. Les souches Africaines de *Xoo* diffèrent des souches Asiatiques, entre autres, par la taille de leur TALome et l'induction de résistances qui leur sont spécifiques. A ce jour, quatre gènes de résistance de type exécuteur (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*) induits par des TALE de *Xoo* ont été identifiés chez le riz, mais seules les souches Asiatiques de *Xoo* les induisent. Depuis quelques années des études concernant la caractérisation des sources de résistances chez le riz induites par les TALE de souches Africaines de *Xoo* ont été menés au sein de l'équipe que j'ai intégrée (Thèse M. HUTIN, 2015 ; équipe XPLAIN, UMR PHIM, IRD). Mes travaux de thèses se sont inscrits dans la continuité de ce projet, en poursuivant la caractérisation des quatre TALE d'avirulence candidats, TalF, TalI et, TalH et TalD, identifiés pour induire de la résistance sur les accessions de riz d'*O. sativa* suivantes : FKR47N, CT13432 et IR64, respectivement.

Caractérisation de nouvelles sources de résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, agent de la bactériose vasculaire du riz

1. Criblage d'une banque de mutants Δtal : confirmation de l'activité d'avirulence d'effecteurs TAL candidats

Le premier chapitre de cette thèse a été dévoué à la caractérisation des effecteurs TAL africains candidats ayant une activité d'avirulence, dans le but de confirmer les résultats précédemment obtenus. Pour disséquer le rôle de chaque TALE, une stratégie de perte-de-fonction consistant à inactiver les gènes *tal* a été mise en place. Les mutants d'intérêt ont ensuite été inoculés sur les

variétés de riz correspondantes pour confirmer le rôle du ou des *tal* dans l'activité d'avirulence des souches Africaines de *Xoo*.

2. Approche de cartographie : identification de QTL de résistance aux souches Africaines chez IR64

Le deuxième chapitre porte sur la caractérisation de la résistance conférée par la variété IR64 contre les souches Africaines de *Xoo*. Pour cela, une approche de cartographie portant sur une population de lignées recombinantes (RIL) composée de 210 lignées de génération F₁₁ (provenant du croisement interspécifique entre IR64 et Azucena) a été utilisée, dans le but d'identifier les QTL de résistance mis en évidence par les souches Africaines de *Xoo*. Par la suite une deuxième population de lignées de génération F_{2:3} a été criblée pour rétrécir les zones QTL identifiées.

3. Identification de gènes exécuteurs candidats via une approche de RNA-seq

Suite aux résultats obtenus, une troisième stratégie, visant à étudier la réponse transcriptomique de la plante lors de l'infection par les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, a été menée sur les variétés de riz IR64 et Nipponbare (dont les génomes sont séquencés et annotés), respectivement résistante et sensible aux souches Africaines de *Xoo*. Au cours des chapitres précédents, l'activité d'avirulence de TalD chez IR64 ayant été démontrée, une comparaison de l'expression différentielle des gènes induits par MAI1 et BAI3 avec le mutant BAI3 Δ *talD* a été effectuée, permettant d'identifier de potentiels gènes *E* candidats expliquant la résistance TalD-dépendante de IR64.

Chapitre 1 : Identification d'effecteurs TAL ayant une activité d'avirulence dans les souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Contexte

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*) est l'agent causal bactériose vasculaire, une maladie dévastatrice du riz. Parmi les effecteurs de type 3 sécrétés par *Xoo* au sein de la cellule végétale, la famille des effecteurs "Transcription Activator-Like" (TALE) joue un rôle essentiel. Certains TALE sont des facteurs de virulence majeurs qui activent les gènes de sensibilité (*S*), dont la surexpression contribue au développement de la maladie. Dans certains cas l'incompatibilité avec l'hôte peut résulter de l'expression de gènes dits exécuteurs (*E*) induits par les TALE, entraînant une réponse de résistance forte et rapide qui bloque le développement de la maladie. Dans ce contexte, le TALE fonctionne comme un facteur d'avirulence (*Avr*). A ce jour, aucun facteur d'avirulence n'a été identifié dans les souches Africaines de *Xoo*. En regard de l'importance des effecteurs TAL dans le pathosystème Riz-*Xoo*, nous avons cherché à identifier ceux qui pourraient agir comme facteur d'avirulence chez des souches de *Xoo* Africaines.

Matériels & Méthodes

Une collection de 86 accessions de riz a été criblée dans le but d'identifier celles spécifiquement résistantes aux souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, et sensible à la souche Asiatique PXO99^A.

Par la suite, une approche de gain de fonction basée sur l'introduction de chacun des neuf gènes *tal* de la souche Africaine avirulente MAI1 dans la souche Asiatique virulente PXO99^A a été entreprise pour identifier des TALE avec une fonction d'avirulence. Une analyse mutationnelle de perte de fonction a ensuite été utilisée pour confirmer les TALE identifiés avec la précédente approche.

Résultats & Conclusions

Parmi les 86 accessions criblées, 12 ont été identifiées comme résistantes aux deux souches Africaines tout en étant sensibles à la souche Asiatique. Grâce aux approches de gain et perte de fonction, quatre TALE candidats ont été identifiés, et l'activité d'avirulence de deux d'entre eux, TalD et TalI, a été démontrée sur les variétés de riz IR64 et CT13432 respectivement. L'analyse des mécanismes qui sous-tendent la résistance de la variété de riz CT13432 a révélé l'existence de deux sources de résistance qui se chevauchent, notamment un allèle apparent du gène de résistance à large spectre *Xa1* et un gène *E* putatif non identifié qui est activé par TalI. En plus de CT13432, parmi les 12 accessions de riz qui étaient résistantes contre les souches de *Xoo* Africaines, 8 ont aussi montré un phénotype de résistance de type *Xa1*.

Perspectives

La combinaison d'analyses de transcriptome et des outils de prédiction de cibles dans le génome de CT13432 pourrait permettre la découverte future de ce gène. Cette approche serait également utile pour déchiffrer quels gènes chez IR64 confèrent une résistance contre les souches Africaines de *Xoo* comportant TalD.

Implication personnelle

Le criblage des 86 accessions avec les souches Africaines et Asiatique de *Xoo*, ainsi que l'approche de gain de fonction ont été réalisés par Mathilde Hutin au cours de sa thèse (2012-2015). Une partie de la collection des souches mutantes BAI3 Δ tal a été criblé par Mathilde H. lors de son post-doctorat, et une autre partie par moi-même au cours de cette thèse. Émilie Thomas a participé à la croissance et à la propagation du matériel végétal. J'ai effectué le reste des expériences.

1 **TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae***

2 Marlène Lachaux¹, Emilie Thomas¹, Adam J. Bogdanove², Boris Szurek^{1*} and Mathilde Hutin^{1*}

3 *Correspondence: boris.szurek@ird.fr; mathilde.hutin@ird.fr

4 ¹Plant Health Institute of Montpellier, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAe, Institut Agro, ,
5 Montpellier, France

6 ²Plant Pathology and Plant Microbe Biology Section, School of Integrative Plant Science, Cornell
7 University, Ithaca, NY, 14853 United States of America

8 **Abstract**

9 **Background:** *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) causes bacterial leaf blight, a devastating
10 disease of rice. Among the type-3 effectors secreted by *Xoo* to support pathogen virulence, the
11 Transcription Activator-Like Effector (TALE) family plays a critical role. Some TALEs are major
12 virulence factors that activate susceptibility (*S*) genes, overexpression of which contributes to
13 disease development. Host incompatibility can result from TALE-induced expression of so-called
14 executor (*E*) genes leading to a strong and rapid resistance response that blocks disease
15 development. In that context, the TALE functions as an avirulence (*Avr*) factor. To date no such
16 avirulence factors have been identified in African strains of *Xoo*.

17 **Results:** With respect to the importance of TALEs in the Rice-*Xoo* pathosystem, we aimed at
18 identifying those that may act as *Avr* factor within African *Xoo*. We screened 86 rice accessions, and
19 identified 12 that were resistant to two African strains while being susceptible to a well-studied
20 Asian strain. In a gain of function approach based on the introduction of each of the nine *tal* genes
21 of the avirulent African strain MAI1 into the virulent Asian strain PXO99^A, four were found to

22 trigger resistance on specific rice accessions. Loss-of-function mutational analysis further
23 demonstrated the *avr* activity of two of them, *talD* and *talI*, on the rice varieties IR64 and CT13432
24 respectively. Further analysis of TalI demonstrated the requirement of its activation domain for
25 triggering resistance in CT13432. Resistance in 9 of the 12 rice accessions that were resistant
26 against African *Xoo* specifically, including CT13432, could be suppressed or largely suppressed by
27 trans-expression of the truncTALE *tal2h*, similarly to resistance conferred by the *Xa1* gene which
28 recognizes TALEs generally independently of their activation domain.

29 **Conclusion:** We identified and characterized TalD and TalI as two African *Xoo* TALEs with
30 avirulence activity on IR64 and CT13432 respectively. Resistance of CT13432 against African *Xoo*
31 results from the combination of two mechanisms, one relying on the TalI-mediated induction of an
32 unknown executor gene and the other on an *Xa1*-like gene or allele.

33 **Keywords:**

34 Rice, bacterial leaf blight, truncTALE/iTALE, germplasm, executor gene, *Xa1*-like resistance

35 **Introduction**

36 Cultivated plants constantly face multiple abiotic and biotic stresses, the latter of which are
37 estimated to cause from 17 to 30% of global yield losses on five of the most important crops
38 including rice (Savary et al. 2019). Rice (*Oryza sativa L.*) is one of the most widely cultivated crops
39 around the world and a staple food for much of the developing world (Ainsworth 2008). A major
40 threat to rice production in Asia and Africa is bacterial leaf blight (BLB) caused by the bacterial
41 phytopathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*). BLB may indeed cause up to 50% of yield
42 loss depending on rice variety, growth stage of infection, geographic location and environmental
43 conditions (Liu et al. 2014). *Xoo* enters leaves through hydathodes or wounds. Bacteria then
44 multiply in the intercellular spaces of the underlying epitheme prior to reaching the xylem vessels
45 and propagating into the plant. BLB symptoms are water-soaked lesions that spread following the
46 bacteria's progression down the leaf and become chlorotic and then necrotic (Niño-Liu et al. 2006).

47 As do many pathogenic gram-negative bacteria, *Xoo* uses a type-3 secretion system (T3SS) to
48 secrete into the host cytoplasm a cocktail of type-3 effectors (T3E) that can be classified as
49 transcription activator-like (TAL) effectors and non-TAL effectors. While the latter include a
50 diverse array of effector families with various molecular activities, members of the TAL effector
51 (TALE) family function as eukaryotic transcription factors that bind in a sequence-specific manner
52 to the promoters of target genes in the host cells. Repeat-variable diresidues (RVDs) located at
53 positions 12th and 13th of each of several contiguous repeats in a central domain of TALEs
54 determine the DNA sequence binding specificity of the protein, one repeat to one nucleotide (Boch
55 et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009). The target sequence, unique to each TALE, is called the
56 effector binding element (EBE). Some *Xoo* TALEs are major virulence factors, targeting
57 susceptibility (*S*) genes. Upregulation of *S* genes by TALEs contributes to disease development. *S*
58 genes characterized to date for BLB mainly encode clade-3 *SWEET* sugar uniporters that may
59 increase the abundance of apoplastic sugar to the benefit of the pathogen, or transcription factors

60 that regulate so far unknown secondary targets promoting host susceptibility (Garcia-Ruiz et al.
61 2021).

62 Forty-six genes, several dominant and some recessive, individually govern rice resistance against
63 *Xoo*. Twelve have been cloned and nine are TALE-dependent, reflecting the crucial role of TALEs
64 in the interaction (Jiang et al. 2020). Recessive resistance often involves mutations within the EBE
65 of an *S* gene to prevent the TALE-DNA interaction and consequent *S* gene induction. This is well
66 illustrated by the non-TALE-inducible *xa13*, *xa25* and *xa41* loss-of-susceptibility alleles of the
67 major *S* genes *OsSWEET11*, *OsSWEET13*, and *OsSWEET14*, respectively (Chu et al. 2006; Liu et
68 al. 2011; Hutin et al. 2015). Dominant resistance is often triggered by TALE-mediated induction of
69 so-called executor (*E*) genes, expression of which leads to rapid plant cell death that blocks disease
70 development (Boch et al. 2014). Four *E* genes, namely *Xa7*, *Xa10*, *Xa23*, *Xa27*, and their respective
71 matching *tal* genes, *avrXa7*, *avrXa10*, *avrXa23*, *avrXa27*, have been cloned and characterized
72 (Hopkins et al. 1992; Gu et al. 2005; Tian et al. 2014; Wang et al. 2014, 2015; Chen et al. 2021;
73 Luo et al. 2021). These *tal* genes are only present in Asian strains of *Xoo* and no *E* genes induced by
74 African *Xoo* TALEs have been identified to date. *E* genes so far code for small proteins with
75 transmembrane domains, and the molecular mechanisms underlying their function are still far from
76 being understood (Zhang et al. 2015; Chen et al. 2021). Another type of dominant resistance is
77 conferred by receptor-like kinases (RLK), such as *Xa3/Xa26* (Sun et al. 2004; Xiang et al.
78 2006) and *Xa21* (Song et al. 1995), but also *Xa4* which encodes a cell wall-associated kinase (Hu et
79 al. 2017). Finally, the last category are genes encoding nucleotide-binding domain leucine-rich
80 repeat containing receptors (NLR) such as *Xa1* and its apparent alleles *Xo1*, *Xa2*, *Xa14*, *Xa31(t)* and
81 *Xa45(t)* (Ji et al. 2020; Read et al. 2020; Zhang et al. 2020). We consider the latter genes “apparent”
82 alleles because *Xo1* resides in a cluster of NLR genes, the number of which varies among rice
83 genotypes, making orthology uncertain. *Xa1* and *Xo1* were shown to mediate resistance in response
84 to TALEs generally, independently of their specific RVD sequence, and with no requirement for the

85 transcriptional activation domain (Ji et al. 2016; Triplett et al. 2016; Read et al. 2020). A variant
86 class of TALEs called interfering (iTALE) or truncated (truncTALE) TALEs suppress *Xa1/Xo1*-
87 mediated resistance, and the truncTALE Tal2h has been demonstrated to interact with Xo1 (Ji et al.
88 2016; Read et al. 2016, 2020). Whether this interaction is direct, and whether Xo1 interacts with
89 TALEs to mediate resistance remains to be elucidated. Analysis of functional apparent alleles of
90 *Xa1* and *Xo1* highlight the absence of an intervening motif present in non-functional alleles, and
91 differences in the number (4 to 7) of central tandem repeats that might explain differences in their
92 activity (Zhang et al. 2020). Interestingly, most Asian strains of *Xoo* harbor iTALEs/truncTALEs
93 while African strains do not, explaining why African strains are widely controlled by *Xa1*, *Xo1* or
94 functional homologs (Ji et al. 2016; Read et al. 2016, 2020).

95 Previous studies demonstrated that African *Xoo* are genetically distant from Asian *Xoo* and closer to
96 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) (Poulin et al. 2015), which causes bacterial leaf streak
97 (BLS). A characteristic feature of African *Xoo* is their small TALome (set of *tal* genes) consisting
98 of 8-9 genes, relative to Asian *Xoo* which carry up to 19 *tal* genes. Moreover, no TALE is
99 conserved between Asian and African strains (Lang et al. 2019). Comparative analysis of the
100 TALome of several African strains revealed six groups of polymorphic TALEs based on their RVD
101 sequences, including TalA, TalB, TalD, TalF, TalH, and TalI (Doucouré et al. 2018; Tran et al.
102 2018). African *Xoo* are also distinguished by a reduced number of races as compared to Asian *Xoo*
103 (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020). Race profiling on near isogenic lines (NILs) reported the
104 potential of *Xa4*, *xa5* and *Xa7* or co-segregating genes to control a few African *Xoo* from Burkina
105 Faso, Niger, and Cameroon (Gonzalez et al. 2007), but the resistance spectrum of these genes has
106 yet to be evaluated on a larger set of strains. Furthermore, *Xa1* comes up as one of the most
107 promising *R* genes in terms of resistance spectrum for the Malian *Xoo* population (Tekete et al.
108 2020). Other studies to identify resistance against African *Xoo* evaluated 107 accessions of *O.*
109 *glaberrima*, the cultivated rice species domesticated in Africa, as well as improved varieties

110 including NERICA (NEw RICE for Africa) (Djedatin et al. 2011; Wonni et al. 2016). NERICA
111 varieties are often the result of the inter-specific crosses between *O. glaberrima*, which represents
112 important germplasm for resistance to local biotic and abiotic stresses, and high-yielding Asian *O.*
113 *sativa*. These studies identified 25 accessions of *O. glaberrima* that are resistant to one or more
114 African strains of *Xoo*, and five Burkinabe elite rice varieties (Djedatin et al. 2011; Wonni et al.
115 2016). Genes or quantitative trait loci accounting for resistance in these varieties remain to be
116 explored.

117 In this study, toward providing breeders with new resistance genes against African *Xoo*, we
118 screened 86 rice accessions including 16 accessions tested previously (Djedatin et al. 2011; Wonni
119 et al. 2016) for resistance to two reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively
120 originating from Mali and Burkina Faso. We included the Asian strain PXO99^A for comparison. For
121 select accessions, we probed with individual TALEs from the African strains expressed in PXO99^A
122 to identify potential *E* or other TALE-dependent resistance genes. We report on the identification of
123 12 accessions showing resistance to both African strains, nine of which involving an *Xa1*-like
124 immunity, and unveil two TALEs with avirulence activity in African *Xoo*. Interestingly, our
125 approach unmasked the occurrence of two overlapping TALE-mediated sources of resistance in the
126 rice variety CT13432, one involving *Xa1*-like activity and the other a so far unknown TALE-
127 dependent *E* gene.

Name	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99 ^A °	*Candidate avirulence TALEs
Og_107	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S	-
Og_162	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S	-
WAB56-50	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
WAB181-18	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
FKR19	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
FKR43	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	-
IR64	<i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>	R	MR	S	TalD, TalH
CT13432	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	R	R	S	TalI
Gigante	<i>O. sativa</i>	R	R	S	-
FKR45N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	-
FKR47N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	TalF
FKR49N	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S	-

Table 1. Four African TALEs mediate resistance when expressed in PXO99^A on resistant varieties.

°Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after inoculation.

Resistant (R), $x < 5$ cm; moderately resistant (MR), $5 \text{ cm} < x < 10$ cm; moderately susceptible (MS), $10 \text{ cm} < x < 15$ cm; susceptible (S), $x > 15$ cm.

*Rice accessions were inoculated with PXO99^A carrying each of the nine *tal* genes of MAI1. (-) means no candidate avirulence TALE identified.

128 **Results**

129 **Germplasm screening for TALE-dependent resistance against African *Xoo* uncovers three** 130 **resistant rice varieties**

131 To search for African *Xoo* *tales* with *avr* activity, we established a gain-of-function approach
132 consisting in the trans-expression of these *tal* genes in a virulent recipient strain of *Xoo*. We first
133 screened a germplasm of 86 accessions of rice and selected those that were susceptible to the Asian
134 *Xoo* strain PXO99^A and resistant to the reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3. Twelve
135 accessions exhibited that phenotype, including two *O. glaberrima*, seven *O. sativa* (two *indica* and
136 one *japonica*), and three elite varieties that are popular in West-Africa (Table S1). To investigate
137 whether the resistance of these 12 accessions to African *Xoo* is triggered by TALEs, each of the
138 nine *tal* genes of the *Xoo* strain MAI1 was introduced into the virulent strain PXO99^A. The
139 expression in PXO99^A of each TALE was confirmed by Western blot (Fig. S1). Each PXO99^A
140 transformant carrying an *Xoo* MAI1 *tal* gene was inoculated to the 12 accessions and to the rice
141 variety Azucena, which was used as susceptible check. No significant difference in lesion lengths
142 was observed upon leaf-clip inoculation of Azucena leaves with the different transformants 15 days
143 after inoculation. In contrast, the varieties CT13432 and FKR47N exhibited resistance when
144 inoculated with PXO99^A transformants carrying *talI* and *talF*, respectively. In addition, PXO99^A
145 strains with *talD* or *talH* both elicited resistance when inoculated to the *O. sativa* ssp. *indica* variety
146 IR64. Overall, four TALEs with avirulence activity and three rice accessions with TAL-dependent
147 resistance were pinpointed through this gain-of-function strategy (Table 1).

148 ***tal* genes mutagenesis confirms *talD* avirulence activity in IR64**

149 To confirm that *talD*, *talH*, *talI* and *talF* act as avirulence genes in strain MAI1, we attempted to
150 generate a library of MAI1 *tal* gene mutants by transformation of the suicide plasmid pSM7 as
151 reported previously (Cernadas et al. 2014; Tran et al. 2018). Because MAI1 turned out to be poorly
152 amenable to genetic transformation, we focused on the *Xoo* strain BAI3, which has a similar

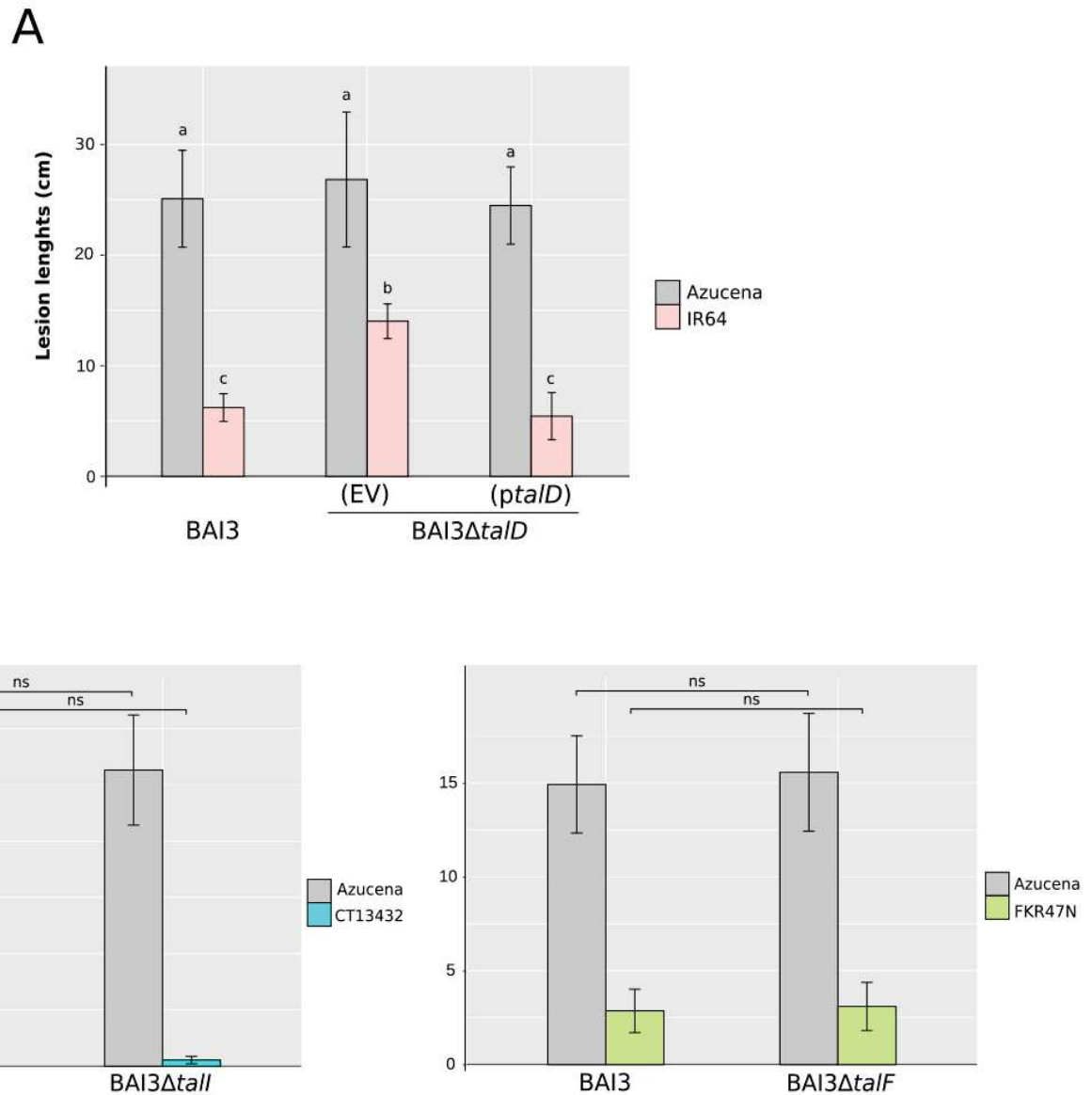


Figure 1. *BAI3ΔtalD* loses avirulence on IR64 but *BAI3ΔtalI* and *BAI3ΔtalF* do not on CT13432 and FKR47N.

(A) Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and BAI3ΔtalD carrying an empty vector (EV) or a plasmid with *talD* (*ptaID*). To assess significance, the parametric test ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different. (B) Leaves of rice varieties CT13432, and FKR47N were clip-inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 and with mutant strains BAI3ΔtalI and BAI3ΔtalF, respectively. Azucena was included for all strains as a susceptible check. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm SD. Significant differences ($p < 0.001$) were determined using an unpaired two-sample t-test; bars with « ns » are not statistically different. Experiments were repeated three times with similar results.

153 TALome (Tran et al. 2018). We obtained at least one mutant strain with a single insertion for each
154 *tal* gene, except for *talH* (Fig. S2). Alongside wild-type (WT) BAI3, mutant strains BAI3 Δ *talI*,
155 BAI3 Δ *talF* and BAI3 Δ *talD* were inoculated to CT13432, FKR47N and IR64, respectively, and to
156 the Azucena susceptible control. Both leaf-clip inoculation and leaf-infiltration of the three
157 BAI3 Δ *tal* mutants produced WT-like symptoms on Azucena, indicating that virulence of these
158 mutant strains was not affected (Fig. 1; Fig. S3). In contrast, an increase of lesion lengths was
159 observed upon clip-inoculation of leaves of IR64 with BAI3 Δ *talD*. Avirulence was fully restored
160 when a plasmid-borne copy of *talD* was introduced into BAI3 Δ *talD* (Fig. 1A), demonstrating the
161 avirulence activity of *talD* in IR64. In contrast, no loss of resistance was observed upon leaf-
162 infiltration or leaf-clipping of CT13432 and FKR47N with *talI* or *talF* mutant strains, respectively
163 (Fig. S3, Fig. 1B), leading to the hypothesis that one or more other *avr* activities, corresponding to
164 one or more other *R* genes, may be masking those of *talI* and *talF*.

165 **CT13432 and FKR47N exhibit *Xa1*-like resistance**

166 When leaves of CT13432 and FKR47N were infiltrated with BAI3, an early and strong
167 hypersensitive response (HR) apparent as rapidly developing necrosis could be observed at the site
168 of inoculation (Fig. S3). *Xa1/Xo1* being able to confer resistance against African strains of *Xoo* and
169 *Xoc* specifically (Ji et al. 2016; Triplett et al. 2016), and among the *Xa* genes that trigger an early
170 and strong HR-like phenotype upon *Xoo* leaf-infiltration, we hypothesized that some *Xa1/Xo1*-like
171 mechanism may be at play in the BAI3-CT13432/FKR47N interactions, redundant to the *talI* and
172 *talF*-specific resistances observed in the gain-of-function experiments. To test this hypothesis we
173 infiltrated the Asian *Xoc* strain BLS256 which carries the truncTALE *tal2h*, and the derivative
174 mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, into leaves of CT13432, FKR47N and the susceptible control
175 Azucena (Fig. 2). As expected, all strains promoted water-soaking symptoms upon infiltration of
176 the susceptible variety Azucena. Typical BLS symptoms were observed when leaves of CT13432
177 and FKR47N were infiltrated with *Xoc* strain BLS256, while a strong resistance phenotype

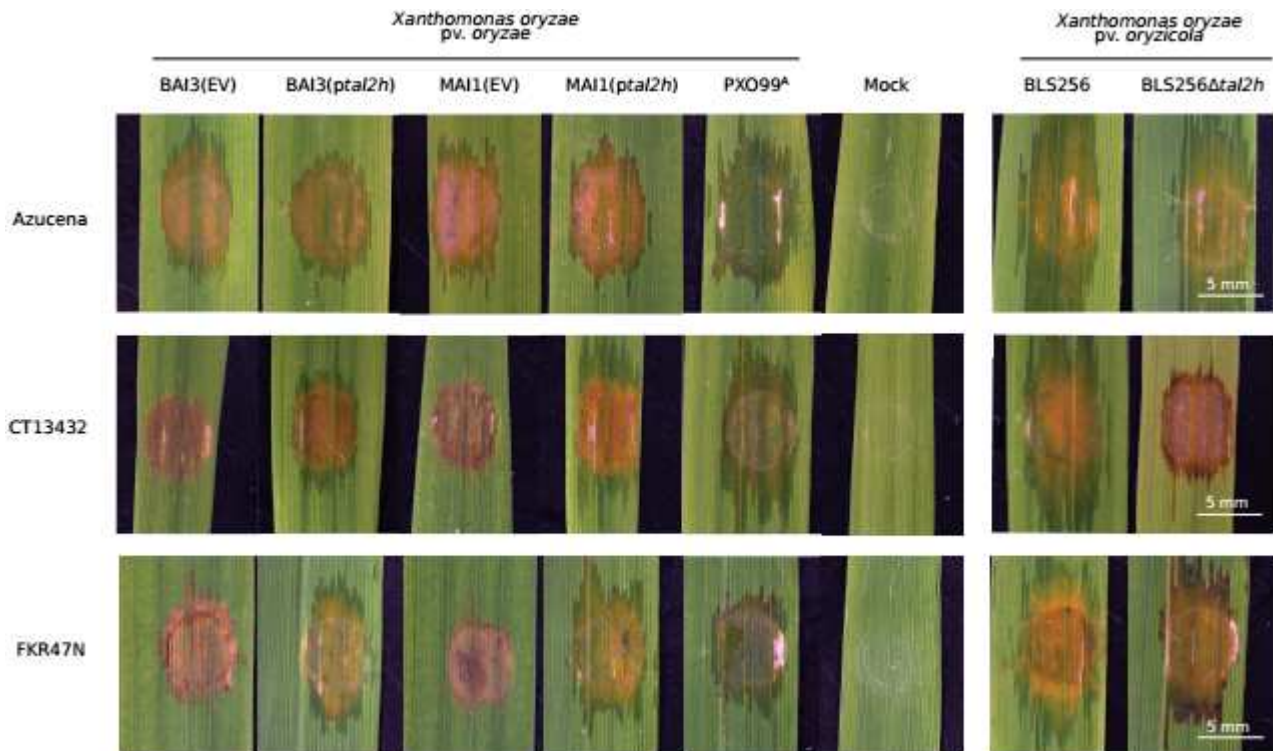


Figure 2. The resistance of CT13432 and FKR47N against African *Xoo* is largely suppressed by a truncTALE.

Leaves of CT13432 and FKR47N rice varieties were inoculated with *Xoo* strains BAI3 and MAI1 carrying an empty vector (EV) or the truncTALE *tal2h* as well as *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) strain BLS256 which is naturally carrying *tal2h* and the mutant strain BLS256Δ*tal2h*. The susceptible rice variety Azucena and the Asian *Xoo* strain PXO99^A were used as controls. Leaves were photographed at 5 dpi.

178 appeared upon infiltration of the truncTALE derivative mutant BLS256 Δ *tal2h*, indicating that
179 CT13432 and FKR47N have *Xa1/Xo1*-like activity. To further confirm that the resistance of these
180 varieties against *Xoo* strains BAI3 and MAI1 is conferred in part by an *Xa1*-like gene, both strains
181 were transformed with *tal2h* and pathogenicity assays were performed. As expected, expression of
182 the truncTALE in BAI3 and MAI1 resulted in a complete loss of HR on CT13432 and FKR47N,
183 which was not the case when the strains carried an empty vector (Fig. 2). Altogether, our results
184 suggest that African *Xoo* resistance in CT13432 and FKR47N is mediated by *Xa1* or other alleles,
185 in addition to as yet unidentified resistance genes corresponding to *talI* and *talF*.

186 To test whether any of the ten remaining resistant accessions involve similar mechanisms, 3-week-
187 old plants were inoculated by infiltration and checked for appearance of the HR. As expected,
188 Carolina Gold Select and IRBB1, carrying respectively *Xo1* and *Xa1*, displayed water-soaking
189 lesions when infiltrated with the Asian *Xoc* strain BLS256, and HR when infiltrated with the
190 African *Xoo* strain BAI3 and the truncTALE derivative mutant BLS256 Δ *tal2h* (Fig. S4).
191 Surprisingly, seven out of the eight *O. sativa* spp. accessions also exhibited a typical *Xa1*-like HR to
192 BAI3 and BLS256 Δ *tal2h* while being susceptible to BLS256 (and to PXO99^A, which also carries
193 iTALEs). The two *O. glaberrima* accessions exhibited no *Xa1*-like resistance, developing water-
194 soaking in response to BAI3 or BLS256 Δ *tal2h* following leaf infiltration (Fig. S4, Table S2).
195 Overall, these observations show that 9 of the 12 resistant varieties including CT13432 and
196 FKR47N resist African *Xoo* through *Xa1/Xo1*-like mechanisms.

197 **Presence of *Xa1* allelic *R* genes in CT13432 and FKR47N rice varieties**

198 To test the prediction that an *Xa1* allele was present in CT13432 and FKR47N, we PCR-amplified a
199 202 bp fragment spanning the junction of the first repeat and its up-stream region (Ji et al. 2020);
200 Table S3), allowing the discrimination of resistant and susceptible alleles (susceptible alleles yield
201 no product). Analysis was performed also on the *Xa1*-carrying near-isogenic line IRBB1 and the

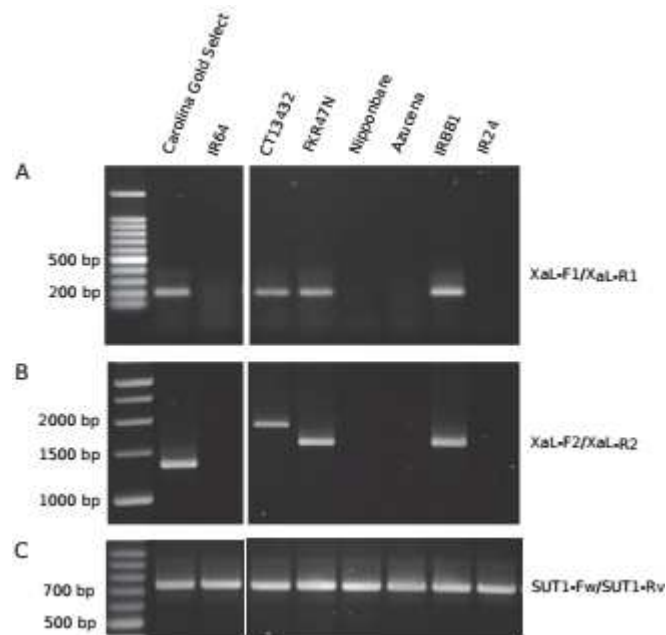


Figure 3. The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of *Xa1*.

The genomic DNA of rice varieties Carolina Gold Select, IR64, CT13432, FKR47N, Nipponbare, Azucena, IRBB1 and IR24 were used as a template for PCR amplification of (A) the junction of the first repeat of 279 base pairs of *Xa1* and its upstream region, (B) the whole repeat region of *Xa1* and alleles, and (C) the housekeeping gene *OsSUT1* used as a control. All the samples were run on the same gel.

202 *Xo1*-carrying Carolina Gold Select rice variety as positive controls, and on Azucena, Nipponbare,
203 IR24 and IR64 as negative controls (Fig. S4). Both CT13432 and FKR47N yielded a product that
204 co-migrated with those of the positive controls (Fig. 3A). No amplification was evident from the
205 negative control varieties. We next tried to determine the number of leucine-rich repeats (LRRs)
206 encoded by the CT13432 and FKR47N alleles by amplifying the LRR domain. As expected, IRBB1
207 and Carolina Gold yielded products of sizes consistent with the six and five LRRs of *Xa1* and *Xo1*,
208 respectively. CT13432 and FKR47N produced amplicons of sizes consistent with the presence of
209 seven and six LRRs, respectively (Fig. 3B). Altogether, these results provide strong evidence that
210 CT13432 and FKR47N varieties each carry a different allele of the *Xa1 R* gene that is active against
211 African *Xoo* strains MAI1 and BAI3.

212 **Suppression of the *Xa1*-like resistance in CT13432 unmasks an underlying *TalI* activation** 213 **domain-dependent resistance**

214 We hypothesized that the *Xa1*-like resistance in CT13432 and FKR47N explains the failure of the
215 *talI* and *talF* knockouts in BAI3 to abolish avirulence of the mutants, respectively, on these
216 varieties (Fig. 1A). To test this hypothesis directly, we first introduced a plasmid-borne copy of
217 *tal2h* into BAI3 and inoculated to CT13432 and the susceptible variety Azucena. The presence of
218 *tal2h* indeed suppressed the *Xa1*-like resistance to BAI3 in CT13432, resulting in moderate disease
219 symptoms development (Fig. 4A), and higher bacterial titers *in planta* (Fig. 4B) as compared with a
220 BAI3 empty vector control. We next tested whether the combination of *tal2h*-mediated *Xa1*-like
221 suppression and *talI* inactivation would lead to even higher virulence on CT13432 by introducing
222 *tal2h* (or the empty vector) into BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*). No significant differences in lesion lengths or
223 bacterial populations were observed between BAI3(*ptal2h*) and BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*)(EV). However,
224 expression of *talI*_{BAI3} in trans in BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*) dramatically reduced lesion lengths and bacterial
225 titer *in planta*, relative to the empty vector in BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*). These results demonstrate that
226 *talI*_{BAI3} *avr* activity in CT13432 can be detected when *Xa1* is inactivated. We next evaluated if

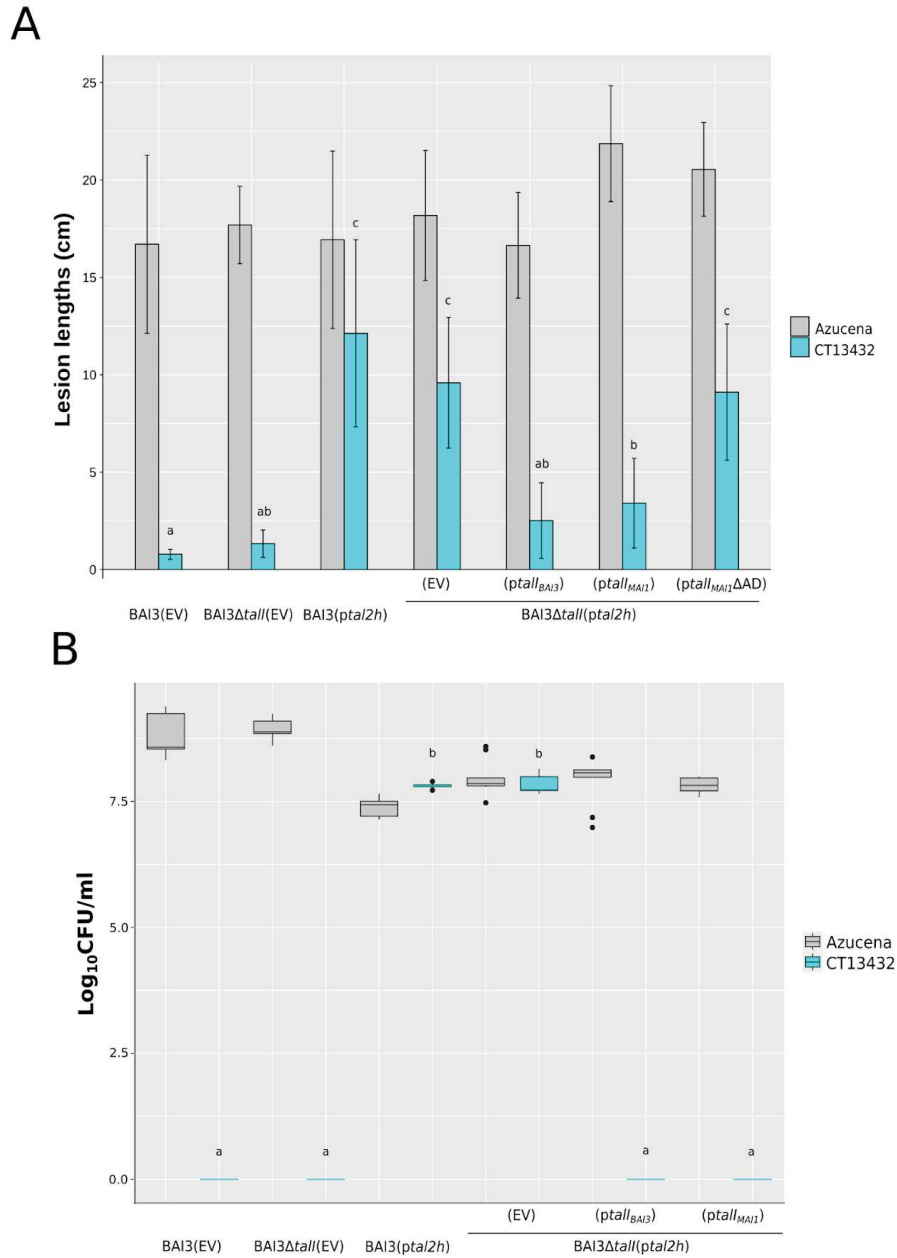


Figure 4. Suppression of Xa1-like resistance unmasks *TalI* avirulence activity in the rice variety CT13432. (A) Leaves of CT13432 and Azucena plants were clip-inoculated with the *Xoo* strain BAI3 carrying the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3Δ*talI* mutant carrying the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3 strain expressing the *tal2h* truncTALE, and BAI3Δ*talI* expressing *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3}, *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1}ΔAD. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. (B) Bacterial counts were taken 7 dpi of rice leaves of CT13432 and Azucena inoculated with the same panel of *Xoo* strains used in (A). Statistical tests in both experiments were carried out in R using the nonparametric Kruskal-Wallis and Dunn's tests ($\alpha = 0.05$). Values labeled with the same lower-case letter are not significantly different.

227 restoration of avirulence could also be obtained upon expression of *talI_{MAI1}* which is polymorphic at
228 RVDs 4 and 9 (Tran et al. 2018). As with *talI_{BAI3}*, expression of *talI_{MAI1}* lead to reduced lesion
229 lengths and *in planta* bacterial amounts, indicating that both *talI* variants confer avirulence on
230 CT13432 (Fig. 4). We next evaluated the requirement of the activation domain (AD) in the *talI*-
231 specific resistance. BAI3 Δ *talI*(*ptal2h*) transformed with the deletion derivative construct
232 *ptalI_{MAI1}* Δ AD failed to trigger resistance in CT13432 while it remained fully virulent on the
233 susceptible variety Azucena (Fig. 4A). Western-blot analysis verified that TalI_{MAI1} and TalI_{MAI1} Δ AD
234 accumulate at comparable levels (Fig. S5). Altogether our results show that the TalI specifically
235 elicits a form of resistance distinct from the Xa1-like resistance in CT13432 and that this elicitation
236 relies on the activation domain of TalI, suggesting the presence of a TalI-activated *E* gene. Further
237 analysis will be necessary to elucidate whether the same is true for *talF*-mediated resistance in
238 FKR47N.

239 Discussion

240 First identified in Japan in 1884, BLB has been long recognized as a major threat in many Asian
241 countries, and therefore for decades at the heart of many research and resistance breeding programs
242 (Liu et al. 2014). To date, a handful of avirulence genes have been cloned from Asian *Xoo* strains,
243 all of which encode TAL effectors including *avrXa7*, *avrXa10*, *avrXa23*, and *avrXa27* (Hopkins et
244 al. 1992; Gu et al. 2005; Wang et al. 2014). In contrast, no avirulence gene has been identified in
245 African *Xoo* strains, the first of which were isolated in the 1980s. However, as many as nine races
246 of African strains, not found among Asian strains, have been reported so far (Gonzalez et al. 2007;
247 Tekete et al. 2020), indicating that some effector genes of African *Xoo* strains act as avirulence
248 factors in gene-for-gene interactions with some rice *R* genes. Comparison between African and
249 Asian *Xoo* TALomes shows that no *tal* gene is conserved between these two *Xoo* lineages (Lang et
250 al. 2019). Strains of both lineages induce the *S* genes *OsSWEET14* and *OsTFX1* through unrelated
251 TALEs, highlighting cases of inter-lineage evolutionary convergence of virulence functions

252 (Streubel et al. 2013; Tran et al. 2018). In contrast, none of the rice *E* genes induced by Asian *Xoo*
253 is predicted to be targeted by any African *Xoo* TALE. Here, toward identifying sources of resistance
254 effective against African *Xoo* strains, we assessed the putative *avr* activity of 12 previously cloned
255 individual *tal* genes representing the TALome of two African *Xoo* strains (Tran et al. 2018), using a
256 large set of rice accessions.

257 To accomplish this goal, we first took a gain-of-function approach using the virulent Asian *Xoo*
258 strain PXO99^A as a recipient to express cloned African *tal* genes. In a similar approach, we
259 previously identified major virulence TALEs of African *Xoo* strains using the US strain *Xo* X11-5A
260 as recipient (Tran et al. 2018). X11-5A lacks *tal* genes and is weakly virulent, allowing for gain-of-
261 virulence screening (Ryba-White et al. 1995; Triplett et al. 2011). Nonetheless in a search for gain-
262 of-avirulence, the use of a more virulent strain is required. By selecting the Asian strain PXO99^A as
263 recipient, we also minimized the risk of TALE functional redundancy. This strategy led to the
264 identification of *talI* and *talF* respectively causing resistance in rice varieties CT13432 and
265 FKR47N, as well as *talD* and *talH*, each triggering resistance on IR64.

266 In a complementary approach, a loss-of-function analysis was carried out by mutagenizing
267 individual *tal* genes in the African *Xoo* strain BAI3. This analysis validated *talD* and *talI* as
268 avirulence genes; a mutant for *talH* was not obtained. Because IR64 has been sequenced and
269 recombinant populations are available, (Fragoso et al. 2017) prospects for future identification of
270 the gene(s) underlying the TalD-elicited resistance are good. Mutagenesis of *talI* or *talF* failed to
271 cause a measurable loss of avirulence in the respective rice varieties CT13432 and FKR47N.
272 However, *talI* avirulence activity was evident upon trans-expression of the truncTALE *tal2h* in
273 BAI3 Δ *talI*, revealing that a resistance like that mediated by Xa1, in response to TALEs generally
274 and suppressed by truncTALEs, is present in CT13432 and masking the TalI-specific resistance. By
275 further taking advantage of this combined gain- and loss-of-function approach, we also determined

276 that the TalI-specific resistance depends on the activation domain of the effector and thus likely
277 involves an *E* gene.

278 While four TALE groups including TalG, TalE, TalD and TalC are strictly conserved between *Xoo*
279 strains MAI1 and BAI3, two to six RVD variations were reported in the five other groups,
280 modifying to some extent their DNA binding sequence specificities (Tran et al. 2018). Notably,
281 three of the four candidate or validated avirulence TALEs identified in this study, TalI, TalF, and
282 TalH all present RVD polymorphisms across Malian and Burkinabe strains, which could be the
283 result of some ongoing selection pressure imposed by corresponding *E* or other resistance genes
284 (Doucouré et al. 2018; Schandry et al. 2018). Surprisingly, the TalD group is much more conserved,
285 highlighted by an absolute RVD conservation between BAI3, MAI1 and the Cameroonian strain
286 CFBP1947 (Tran et al. 2018), and only one polymorphic RVD among nine Malian strains
287 investigated (Doucouré et al. 2018). According to the EBE prediction tools Target Finder and Talvez
288 (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), 90% of the first 20 predicted targets of the two
289 versions of TalD are conserved. Such a conservation among strains hints to an important role in
290 virulence for TalD, but there are no data supporting this hypothesis so far. Concerning the TalI
291 group, BAI3 and MAI1 alleles differ at two RVDs and share about 32% of their predicted targets,
292 querying the Nipponbare genome. Since both variants equally elicit resistance in the rice variety
293 CT13432, their polymorphism may confer an advantage in future identification of the putative
294 corresponding *E* gene; the gene is likely to reside among the relatively smaller number of predicted
295 targets in that genome that are shared by the two alleles.

296 Up to now 12 *R* genes against BLB have been cloned, of which 9 are triggered by TALEs (Jiang et
297 al. 2020; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). This proportion not only highlights the crucial role of
298 this effector family in the rice-*Xoo* pathosystem but also the relevance of using TALEs as probes to
299 identify resistance sources and clone the underlying genes. This quest is facilitated by the ability to

300 identify candidate targets of TALEs by combining EBE prediction and expression analysis, owing
301 to the modular nature of TALE DNA interactions and their strong transcriptional upregulation of
302 targets (Boch et al. 2014). In a proof-of-concept study pioneering this strategy for *E* gene
303 identification, Strauss et al (2012) identified the pepper *Bs4C* gene, which is specifically induced by
304 the TALE AvrBs4 from *X. euvesicatoria*. More recently, a mix of map-based cloning and EBE
305 predictions led to the isolation of the *E* gene *Xa7* in rice, which is triggered by the *Xoo* TALE
306 AvrXa7 (Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). In our study, out of the 86 accessions phenotyped, 12
307 were found to be resistant to both African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, including 7 accessions of *O.*
308 *sativa*, 2 of *O. glaberrima* and 3 NERICAs. Moreover, 12 *O. glaberrima*, 3 *O. sativa*, 3 *O. barthii*
309 and 2 NERICA accessions were discovered to be resistant specifically to the Malian strain MAI1.

310 Among the 12 accessions identified as resistant to *Xoo* African strains MAI1 and BAI3, 9
311 accessions, including CT13432 and FKR47N, showed a phenotype typical of *Xa1* resistance (Table
312 S2; Fig. S4). This is not surprising since *Xa1* and its functional homologs exhibit broad-spectrum
313 resistance against African *Xoo* specifically, owing to the lack of iTALEs in examined African *Xoo*
314 strains (Ji et al. 2016; Read et al.;2016). The *Xa1* allele that we discovered in the rice variety
315 CT13432 appears to contain seven LRRs, like the allele originally identified as *Xa45(t)*, which was
316 cloned from the wild rice variety *Oryza nivara-1* (Ji et al. 2020). Other alleles reported to date
317 contain 4 (*Xa14*), 5 (*Xa2* and *Xo1*), and 6 repeats (*Xa1*). Variety FKR47N contains an allele that
318 appears to have 6 LRRs. FKR47N, also called NERICA 17, is the result of crossing *O. glaberrima*
319 variety CG14 and *O. sativa* ssp. *japonica* variety WAB181-18, backcrossing to WAB181-18 as
320 recurrent parent. *Xa1* alleles have been reported in other NERICAs. Alleles in NERICAs 5 and 7,
321 the recurrent parent of which is the *O. sativa* ssp. *japonica* rice variety WAB56-104, have five and
322 six LRRs respectively. NERICAs 12 and 14, coming from the *O. sativa* ssp. *japonica* rice variety
323 WAB56-50, each carry an allele with five LRRs (Ji et al. 2020). According to Ji et al. (2020), a
324 search for *Xa1* allelic members in the 3000 rice genomes revealed that approximately 15% contain

325 the *Xa1* signature sequence. A phenotypic screening for *Xa1*-like resistance in 87 rice accessions
326 revealed its in 16, including different rice species such as *O. glaberrima*, *O. nivara* and *O. sativa* (Ji
327 et al. 2020). A complementary study on more than 500 *O. sativa* accessions revealed that *Xa1*
328 alleles were present in *aus*, *indica*, temperate and tropical *japonica* (Zhang et al. 2020). The
329 frequency of *Xa1* alleles among diverse rice varieties and the variability of LRRs number among
330 *Xa1* alleles observed in these studies and revealed further by our results, underscores the
331 unanswered question of the origin of the gene and the drivers of its diversification.

332 BLB represents a serious threat to rice production in Africa. Varietal resistance is the best strategy
333 to control BLB durably, but it requires sources of resistance effective against the local pathogen
334 genotypes. So far, no African strain of *Xoo* with iTALE/truncTALE has been identified, which
335 makes *Xa1* and its alleles promising tools to control BLB in Africa. Although the durability of *Xa1*
336 in Africa is difficult to predict, the risk of emergence of strains of *Xoo* originating from Asia and
337 their spread through the African continent seems high in the current context of intense global
338 exchanges of rice germplasm and insufficient phytosanitary measures. Pyramiding of resistance
339 genes against BLB is of great value to extend the durability and the spectrum of resistance within a
340 rice variety (Oliva et al. 2019). CT13432 combines several rice blast resistance genes (Pi1, Pi2 and
341 Pi33) (Tharreau et al. 2007; Utami et al. 2011), but here we found out that it also carries at least
342 two, distinct types of resistance to BLB, an apparent *Xa1* allele and a putative, Tall-dependent *E*
343 gene, making it an excellent material for breeding to create improved varieties for Africa. What is
344 more, we expect that the CT13432 might also carry yet another blast resistance gene, *Pi63*, which
345 resides at the same locus as *Xo1* in Carolina Gold Select (Read et al. 2020).

346 **Conclusions**

347 In this study, we identified 12 rice accessions exhibiting resistance against African strains of *Xoo*
348 and described 4 TAL effectors from these strains that exhibit avirulence activity. Analysis of the

349 mechanisms underlying the resistance of the rice variety CT13432 revealed the occurrence of two
350 overlapping sources of resistance including an apparent allele of the broad-spectrum resistance gene
351 *Xa1* and an unidentified putative *E* gene that is activated by TalI. Combining transcriptomics and
352 EBE prediction tools in the genome of CT13432 may allow discovery of this gene in the future.
353 This approach would also be useful to decipher what genes in IR64 confer resistance against strains
354 of *Xoo* with TalD.

355 **Material and Methods**

356 **Bacterial Strains and Growth Conditions**

357 Bacterial strains used in this study are listed in Table S4. *Escherichia coli* was cultivated at 37°C in
358 liquid or solid (15 g agar per L) Luria-Bertani (LB) medium (10 g of tryptone, 5 g of yeast extract,
359 and 5 g of NaCl per L of distilled water), and *Xanthomonas oryzae* pathovars at 28°C in liquid or
360 solid (16 g agar per L) peptone sucrose medium (10 g of peptone, 10 g of sucrose, and 1 g of
361 glutamic acid per L of distilled water).

362 **Plant Materials and Plant Inoculations**

363 The rice accessions screened in this study are listed in Table S1. Plants used were grown in a
364 greenhouse under cycles of 12h of light at 28°C with 80% relative humidity (RH) and 12h of dark
365 at 25°C with 70% RH. When used for bacterial quantification assays, plants were grown in a
366 growth chamber at 28°C and 80% RH (day and night). For lesion length assays, leaves of 5-week-
367 old plants were inoculated by leaf-clipping with a bacterial suspension at an optical density at 600
368 nm (OD_{600}) of 0.2. Lesion lengths were measured 15 days post inoculation (dpi) on at least eight
369 leaves from individual plants per experiment. Leaves of 3-week-old plants were infiltrated with a
370 needleless syringe and a bacterial suspension at an OD_{600} of 0.5. Symptoms were photographed at 5
371 dpi. For bacterial quantification assay, 5-week-old plants were inoculated by leaf-clipping and 10

372 cm distal leaf fragments of three leaves from three individual plants per condition were cut in half
373 and ground in liquid nitrogen separately as reported previously (Yu et al. 2011).

374 **Plasmid Transformation**

375 Plasmids were introduced into *E. coli* cells by heat-shock transformation and into *Xoo* by
376 electroporation or triparental mating (Figurski and Helinski 1979). Appropriate antibiotics for
377 selection were added to growth media at the following final concentrations: rifampicin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$
378 $^{-1}$; gentamicin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$; tetracycline, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$; kanamycin, 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$.

379 *tal* genes of the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 are cloned in pSKX1, which confers
380 gentamicin resistance (Tran et al., 2018; Table S4). The truncTALE *tal2h* is cloned in pKEB31,
381 which confers tetracycline resistance (Read et al. 2016; Table S4). The plasmids are compatible
382 with each other.

383 **Mutant library construction and characterization**

384 The BAI3 Δ *tal* mutants were generated upon electroporation of the wild-type strain BAI3 with the
385 suicide plasmid pSM7 (Cernadas et al. 2014). Mutant strains were selected with kanamycin at 100
386 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. The mutant library was characterized by Southern blot analysis. Extraction of *Xoo*
387 genomic DNA (gDNA) was performed using the Wizard Genomic DNA Purification kit
388 (Promega[®]). Four micrograms of gDNA were digested by *Bam*HI-HF (New England Biolabs) at
389 37°C overnight. The digested DNA was separated in a 1 % agarose gel at 50 Volts for 72 hours at
390 4°C and transferred to a nylon membrane (Roche[®]) overnight. Hybridization was conducted
391 according to the procedures described in the DIG High Prime DNA Labeling and Detection Starter
392 kit II protocol (Roche[®]), using a 725-bp C-terminal *TalC*_{MAI1} amplicon as probe (Yu et al. 2011).

393 **Construction of *talI* activation domain mutant**

394 The *talI*_{MAII}ΔAD construct was made by swapping the central repeat region of a *talF*_{MAII}ΔAD
395 construct with that of *talI*_{MAII}. To create the *talF*_{MAII}ΔAD construct, a PCR product corresponding to
396 a 520 bp fragment encoding the C-terminus of *talF*_{MAII} was obtained with primers ΔAD_Fw and
397 ΔAD_Rv (Table S3), thereby allowing to introduce an inframe 167-nt deletion. This amplicon was
398 introduced into pSKX1_*talF*_{MAII} between the *PvuI* and *HindIII* restriction sites using T4 DNA ligase
399 (Promega®) according to manufacturer's recommendations, creating pSKX1_*talF*_{MAII}ΔAD. The
400 *talI*_{MAII} central repeat region was then swapped into pSKX1_*talF*_{MAII}ΔAD using *StuI* and *AatII*
401 (NEB, New England Biolabs) to generate pSKX1_*talI*_{MAII}ΔAD. The plasmid was confirmed by
402 Sanger sequencing.

403

404 **Expression Analysis by Western Blotting**

405 *Xoo* strains carrying the different combinations of TALE-encoding plasmid, truncTALE (*tal2h*) -
406 encoding plasmid, and empty vectors (pSKX1 or pKEB31) were grown in liquid peptone sucrose
407 medium supplemented with the corresponding antibiotics at 28°C. Cells of 1 ml of a bacterial
408 suspension at an OD₆₀₀ of 0.4 were harvested. Proteins were extracted with the BugBuster® Master
409 Mix (Novagen), according to manufacturer's recommendations. The total protein concentration of
410 each sample was calculated by a Bradford assay following the Bio-Rad Protein Assay protocol
411 (Bio-Rad, USA), and protein concentrations adjusted. TALE and truncTALE expression was
412 analyzed by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis using a 4-15%
413 polyacrylamide gel and immunoblotting using the anti-TALE polyclonal antibody produced by
414 Read et al. (2016) followed by a horseradish peroxidase conjugated rabbit secondary antibody
415 (Sigma-Aldrich). Detection was carried out using the Thermo Scientific™ Pierce™ ECL 2 Western
416 Blotting Substrate kit and a Typhoon™ FLA 9500 (General Electric Healthcare Life Sciences, USA)
417 for imaging.

418 **PCR-amplification of putative functional *Xa1* alleles**

419 To identify rice accessions harboring a potentially functional *Xa1* allele and to decipher the number
420 of 93 aa repetitions, genomic DNA of rice accessions was extracted using an adaptation of the
421 Murray and Thompson protocol (Murray and Thompson 1980) and was subjected to PCR using
422 pairs of primers XaL-F1/XaL-R1 and XaL-F2/XaL-R2, respectively (Table S3; Ji et al. 2020).

423 **Author's Contributions**

424 ML, BS, and MH designed the experiments. ML and MH conducted the experiments. ET
425 participated in plant material growth and propagation. ML, AB, BS, and MH performed data
426 analysis and wrote the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

427 **Funding**

428 This work was supported by the CRP-Rice (CGIAR Research Program) to MH and BS, and the
429 Plant Genome Research Program of the National Science Foundation (Division of Integrative
430 Organismal Systems IOS-1444511 to AJB).

431 **Availability of Data and Materials**

432 The datasets supporting the conclusions of this article are provided within the article and its
433 supplementary information files.

434 **Declarations**

435 **Ethics Approval and Consent to Participate**

436 Not applicable

437 **Consent for Publication**

438 Not applicable

439 **Competing interests**

440 The authors declare that no competing interests exist.

441 **Figure titles and legends**

442 **Fig. S1 Western-blot of PXO99^A *Xoo* transformant total protein extracts using an anti-TALE**
443 **antibody.**

444 Protein extracts prepared from the wild-type *Xoo* strain PXO99^A and the *Xoo* strain PXO99^A
445 carrying, on the vector pSKX1, each of the nine *tal* genes of the Malian strain MAI1 and their
446 variants in the Burkinabe strain BAI3. Reference molecular weights are indicated at right. The
447 expressed MAI1 and BAI3 TALE proteins are each indicated by a red dot. Bands of lower
448 molecular weight not present in the wild-type PXO99^A extract are degradation products of the
449 heterologously expressed TALEs, commonly observed.

450 **Fig. S2. Molecular characterization of a library of BAI3 Δ *tal* mutant strains**

451 Genomic DNA of the wild-type *Xoo* strain BAI3 and derivative BAI3 Δ *tal* mutants were digested by
452 *Bam*HI-HF which cuts on either side of the central repeat region of *tal* genes and revealed by
453 Southern blot using a 725-bp C-terminal *tal*C_{MAI1} amplicon as probe (Yu et al. 2011). Individual
454 mutants were obtained for each *tal* gene with the exception of *talH*. One double *talG/talH* mutant
455 was analyzed instead. BAI3 Δ *talB* was obtained previously, also using the suicide plasmid pSM7
456 (Tran et al., 2018), and is therefore not included here. *tal* genes are indicated to the left and DNA
457 sizes to the right. Red arrows indicate the *tal* gene(s) that were mutated.

458 **Fig. 1 BAI3 Δ *talD* loses avirulence on IR64 but BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF* do not on CT13432**
459 **and FKR47N.**

460 (A) Leaves of IR64 and Azucena were challenged with *Xoo* strains BAI3, and BAI3 Δ *talD* carrying
461 an empty vector (EV) or a plasmid with *talD* (*ptalD*). To assess significance, the parametrical test
462 ANOVA ($\alpha = 0.05$) was carried out using the R package. Values labeled with the same lower-case
463 letter are not significantly different. (B) Leaves of rice varieties CT13432, and FKR47N were clip-
464 inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 and with mutant strains BAI3 Δ *talI* and
465 BAI3 Δ *talF*, respectively. Azucena was included for all strains as a susceptible check. Lesion
466 lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Error bars represent \pm
467 SD. Significant differences ($p < 0.001$) were determined using an unpaired two-sample t-test, bars
468 with « ns » are not statistically different. Experiments were repeated three time with similar results.

469 **Fig. S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with**
470 **BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF* mutants.**

471 Leaves of rice varieties IR64, CT13432, FKR47N and Azucena were infiltrated with the wild type
472 African *Xoo* strain BAI3 and the mutant derivatives BAI3 Δ *talD*, BAI3 Δ *talI* and BAI3 Δ *talF*.
473 Inoculated leaves were photographed at 5 dpi.

474 **Fig. 2 The resistance of CT13432 and FKR47N against African *Xoo* is largely suppressed by a**
475 **truncTALE.**

476 Leaves of CT13432 and FKR47N rice varieties were inoculated with *Xoo* strains BAI3 and MAI1
477 carrying an empty vector (EV) or the truncTALE *tal2h* as well as *Xanthomonas oryzae* pv.
478 *oryzicola* (*Xoc*) strain BLS256 which is naturally carrying *tal2h* and the mutant strain
479 BLS256 Δ *tal2h*. The susceptible rice variety Azucena and the Asian *Xoo* strain PXO99^A were used
480 as controls. Leaves were photographed at 5 dpi.

481 **Fig. S4. The *tal2h* truncTALE reveals *Xa1*-like resistance against the *Xoo* strain BAI3 in**
482 **several rice varieties.**

483 Leaves of rice accessions, including Carolina Gold Select which carries *Xo1*, and IRBB1 which
484 carries *Xa1*, were infiltrated with *Xoc* strain BLS256 which naturally carries the *tal2h* truncTALE
485 gene, the mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, as well as with *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector
486 (EV) or *tal2h*. The Asian *Xoo* strain PXO99^A which harbors two truncTALEs, was used as an
487 additional positive control. Leaves were photographed at 5 dpi.

488 **Fig. 3 The rice varieties CT13432 and FKR47N carry distinct apparent alleles of *Xa1*.**

489 The genomic DNA of rice varieties Carolina Gold Select, IR64, CT13432, FKR47N, Nipponbare,
490 Azucena, IRBB1 and IR24 were used as a template for PCR amplification of (A) the junction of the
491 first repeat of 279 base pairs of *Xa1* and its upstream region, (B) the whole repeat region of *Xa1* and
492 alleles, and (C) the housekeeping gene *OsSUT1* used as a control. All the samples were run on the
493 same gel.

494 **Fig. 4 Suppression of *Xa1*-like resistance unmasks *talI* avirulence activity in the rice variety**
495 **CT13432.**

496 (A) Leaves of CT13432 and Azucena plants were clip-inoculated with the *Xoo* strain BAI3 carrying
497 the pKEB31 empty vector (EV), the BAI3 Δ *talI* mutant carrying the pKEB31 empty vector (EV),
498 the BAI3 strain expressing the *tal2h* truncTALE, and BAI3 Δ *talI* expressing *tal2h* and the pSKX1
499 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3}, *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1} Δ AD. Lesion lengths were
500 measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. (B) Bacterial counts were taken 7
501 days post-inoculation of rice leaves of CT13432 and Azucena inoculated with the same panel of

502 *Xoo* strains used in (A). Statistical tests in both experiments were carried out in R using the
503 nonparametric Kruskal-Wallis and Dunn's tests ($\alpha = 0.05$). Values labeled with the same lower-case
504 letter are not significantly different.

505 **Fig. S5. Western-blot analysis of *Xoo* total protein extracts using an anti-TALE antibody.**
506 Proteins extracts prepared from *Xoo* strain BAI3 carrying the empty vector pKEB31 (EV),
507 BAI3 Δ *talI* carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3 carrying the *tal2h* truncTALE gene, and
508 BAI3 Δ *talI* with *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3} or *talI*_{MAII} or
509 *talI*_{MAII} Δ AD. BAI3 *tal* genes and *tal2h* are indicated to the left and right, respectively. Molecular
510 weight is indicated.

511 **References**

- 512 Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to
513 elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650.
514 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- 515 Boch J, Bonas U, Lahaye T (2014) TAL effectors - pathogen strategies and plant resistance
516 engineering. *New Phytol* 204:823–832. <https://doi.org/10.1111/nph.13015>
- 517 Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of
518 TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512.
519 <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- 520 Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, et al (2014) Code-Assisted Discovery of TAL Effector
521 Targets in Bacterial Leaf Streak of Rice Reveals Contrast with Bacterial Blight and a Novel
522 Susceptibility Gene. *PLoS Pathog* 10:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- 523 Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-
524 spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- 525
- 526 Chu Z, Fu B, Yang H, et al (2006) Targeting xa13, a recessive gene for bacterial blight resistance in
527 rice. *Theor Appl Genet* 112:455–461. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0145-6>
- 528 Djedatin G, Ndjioudjop MN, Mathieu T, et al (2011) Evaluation of African cultivated rice *Oryza*
529 *glaberrima* for resistance to bacterial blight. *Plant Dis* 95:441–447.
530 <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0558>
- 531 Doucouré H, Pérez-Quintero AL, Reshetnyak G, et al (2018) Functional and genome sequence-
532 driven characterization of tal effector gene repertoires reveals novel variants with altered
533 specificities in closely related malian *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains. *Front Microbiol*
534 9:1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01657>

535 Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT)
536 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122.
537 <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>

538 Figurski DH, Helinski DR (1979) Replication of an origin-containing derivative of plasmid RK2
539 dependent on a plasmid function provided in trans. *Proc Natl Acad Sci* 76:1648–1652.
540 <https://doi.org/10.1073/PNAS.76.4.1648>

541 Fragoso CA, Moreno M, Wang Z, et al (2017) Genetic Architecture of a Rice Nested Association
542 Mapping Population. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 7:1913–1926.
543 <https://doi.org/10.1534/G3.117.041608>

544 Garcia-Ruiz H, Szurek B, Van den Ackerveken G (2021) Stop helping pathogens: engineering plant
545 susceptibility genes for durable resistance. *Curr Opin Biotechnol* 70:187–195.
546 <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.05.005>

547 Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new
548 *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546.
549 <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>

550 Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers
551 disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>

552 Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459.
553 <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>

554 Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance
555 gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>

556 Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a
557 broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J*
558 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>

559 Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by
560 Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087.
561 <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>

562 Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-
563 mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>

564 Jiang N, Yan J, Liang Y, et al (2020) Resistance Genes and their Interactions with Bacterial Blight/
565 Leaf Streak Pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in Rice (*Oryza sativa* L.)—an Updated Review.
566 *Rice* 13:. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0358-y>

567 Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting
568 wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front*
569 *Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>

570 Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-
571 specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969.
572 <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>

573 Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and
574 fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto->
575 [102313-045926](https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926)

576 Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice
577 susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant*
578 *Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>

579 Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors.
580 *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>

581 Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic*
582 *Acids Res* 8:4321–4326. <https://doi.org/10.1093/NAR/8.19.4321>

583 Niño-Liu DO, Ronald PC, Bogdanove AJ (2006) *Xanthomonas oryzae* pathovars: Model pathogens
584 of a model crop. *Mol Plant Pathol* 7:303–324. [https://doi.org/10.1111/j.1364-](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x)
585 [3703.2006.00344.x](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x)

586 Oliva R, Ji C, Atienza-Grande G, et al (2019) Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice
587 using genome editing. *Nat Biotechnol* 37:1344–1350. [https://doi.org/10.1038/s41587-019-](https://doi.org/10.1038/s41587-019-0267-z)
588 [0267-z](https://doi.org/10.1038/s41587-019-0267-z)

589 Pérez-Quintero AL, Rodríguez-R LM, Dereeper A, et al (2013) An Improved Method for TAL
590 Effectors DNA-Binding Sites Prediction Reveals Functional Convergence in TAL Repertoires
591 of *Xanthomonas oryzae* Strains. *PLoS One* 8:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>

592 Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat
593 analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf
594 streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698.
595 <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>

596 Read AC, Hutin M, Moscou MJ, et al (2020) Cloning of the rice Xo1 resistance gene and
597 interaction of the Xo1 protein with the defense-suppressing *Xanthomonas* effector Tal2h. *Mol*
598 *Plant-Microbe Interact* 33:1189–1195. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-20-0131-SC>

599 Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020) Genome assembly and characterization of a complex
600 zfBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with
601 Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zfBED-NLR gene-containing Dis*
602 *Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678.
603 <https://doi.org/10.1101/675678>

604 Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (2016) Suppression of Xo1-mediated disease resistance in rice
605 by a truncated, non-DNA-binding TAL effector of *Xanthomonas oryzae*. *Front Plant Sci* 7:1–
606 [14. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516)

607 Ryba-White M, Notteghem JL, Leach J. (1995) Comparison of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*
608 strains from Africa, North America, and Asia by restriction fragment length polymorphism

609 analysis. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=QR9500053>. Accessed 14 Aug
610 2021

611 Savary S, Willocquet L, Pethybridge SJ, et al (2019) The global burden of pathogens and pests on
612 major food crops. *Nat Ecol Evol* 3:430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>

613 Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant
614 breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol*
615 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>

616 Song W-YY, Wang G-LL, Chen L-LL, et al (1995) A receptor kinase-like protein encoded by the
617 rice disease resistance gene, Xa21. *Science* (80-) 270:1804.
618 <https://doi.org/10.1126/science.270.5243.1804>

619 Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, et al (2012) RNA-seq pinpoints a *Xanthomonas* TAL-
620 effector activated resistance gene in a large-crop genome. *Proc Natl Acad Sci U S A*
621 109:19480–19485. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

622 Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer
623 TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol*
624 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>

625 Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) Xa26, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv.
626 *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527.
627 <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>

628 Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas*
629 *oryzae* pv. *oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–
630 277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>

631 Tharreau D, Nottoghem JL, Morel JB, et al (2007) Developing Blast Durable Resistance By Using
632 The Wild Rice Species, *Oryza rufipogon* : Presentasi RUTI IV

633 Tian D, Wang J, Zeng X, et al (2014) The Rice TAL effector-dependent resistance protein XA10
634 triggers cell death and calcium depletion in the endoplasmic reticulum. *Plant Cell* 26:497–515.
635 <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>

636 Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas*
637 *oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice.
638 *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>

639 Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger C, et al (2016) A resistance locus in the American heirloom
640 rice variety Carolina Gold Select is triggered by TAL effectors with diverse predicted targets
641 and is effective against African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. *Plant J* 87:472–
642 483. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>

643 Triplett LR, Hamilton JP, Buell CR, et al (2011) Genomic analysis of *Xanthomonas oryzae* isolates
644 from rice grown in the united states reveals substantial divergence from known *X. oryzae*
645 pathovars. *Appl Environ Microbiol* 77:3930–3937. <https://doi.org/10.1128/AEM.00028-11>

646 UTAMI DW, Barnita K, Yuriah S, Hanarida I (2011) Nucleotide Base Variation of Blast Disease
647 Resistance Gene Pi33 in Rice Selected Broad Genetic Background. *HAYATI J Biosci* 18:123–
648 128. <https://doi.org/10.4308/hjb.18.3.123>

649 Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is
650 triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv.
651 *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>

652 Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor r protein and confers broad-spectrum
653 disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>

654 Wonni I, Hutin M, Ouédraogo L, et al (2016) Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New
655 Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa. *Rice Res Open Access* 4:1–
656 8. <https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162>

- 657 Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding
658 a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. [https://](https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x)
659 doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x
- 660 Yu Y, Streubel J, Balzergue S, et al (2011) Colonization of rice leaf blades by an African strain of
661 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* depends on a new TAL effector that induces the rice nodulin-
662 3 Os11N3 gene. *Mol Plant-Microbe Interact* 24:1102–1113. [https://doi.org/10.1094/MPMI-11-](https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254)
663 [10-0254](https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254)
- 664 Zhang B, Zhang H, Li F, et al (2020) Multiple Alleles Encoding Atypical NLRs with Unique
665 Central Tandem Repeats in Rice Confer Resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant*
666 *Commun* 1:100088. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100088>
- 667 Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9.
668 <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>

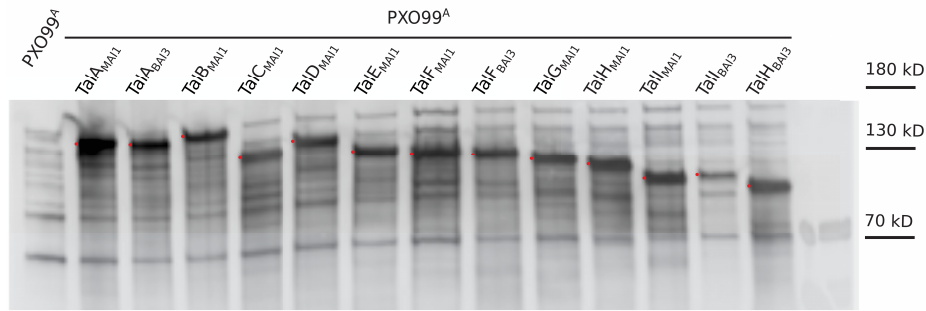


Fig. S1 Western-blot analysis of PXO99^A *Xoo* transformant total protein extracts using an anti-TALE antibody.

Protein extracts prepared from the wild-type *Xoo* strain PXO99^A and the *Xoo* strain PXO99^A carrying, on the vector pSKX1, each of the nine *tal* genes of the Malian strain MAI1 and their variants in the Burkinabe strain BAI3. Reference molecular weights are indicated at right. The expressed MAI1 and BAI3 TALE proteins are each indicated by a red dot. Bands of lower molecular weight not present in the wild-type PXO99^A extract are degradation products of the heterologously expressed TALEs, commonly observed.

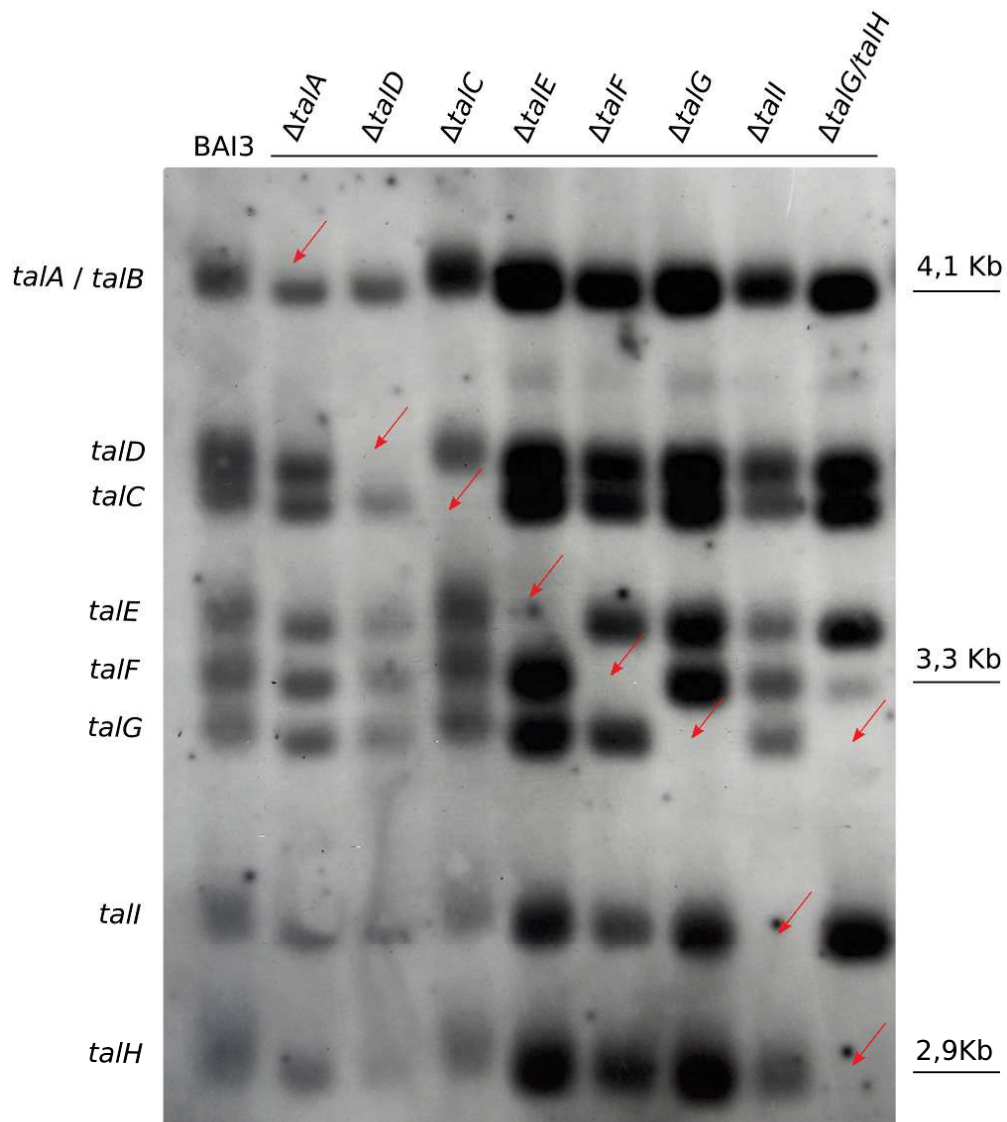


Figure S2. Molecular characterization of a library of BAI3Δtal mutant strains.

Genomic DNA of the wild-type *Xoo* strain BAI3 and derivative BAI3Δtal mutants were digested by *Bam*HI-HF which cuts on either side of the central repeat region of *tal* genes and revealed by Southern blot using a 725-bp C-terminal *talC*_{MA11} amplicon as probe (Yu et al. 2011). Individual mutants were obtained for each *tal* gene with the exception of *talH*. One double *talG/talH* mutant was analyzed instead. BAI3ΔtalB was obtained previously, also using the suicide plasmid pSM7 (Tran et al. 2018), and is therefore not included here. *tal* genes are indicated to the left and DNA sizes to the right. Red arrows indicate the *tal* gene(s) that were mutated.

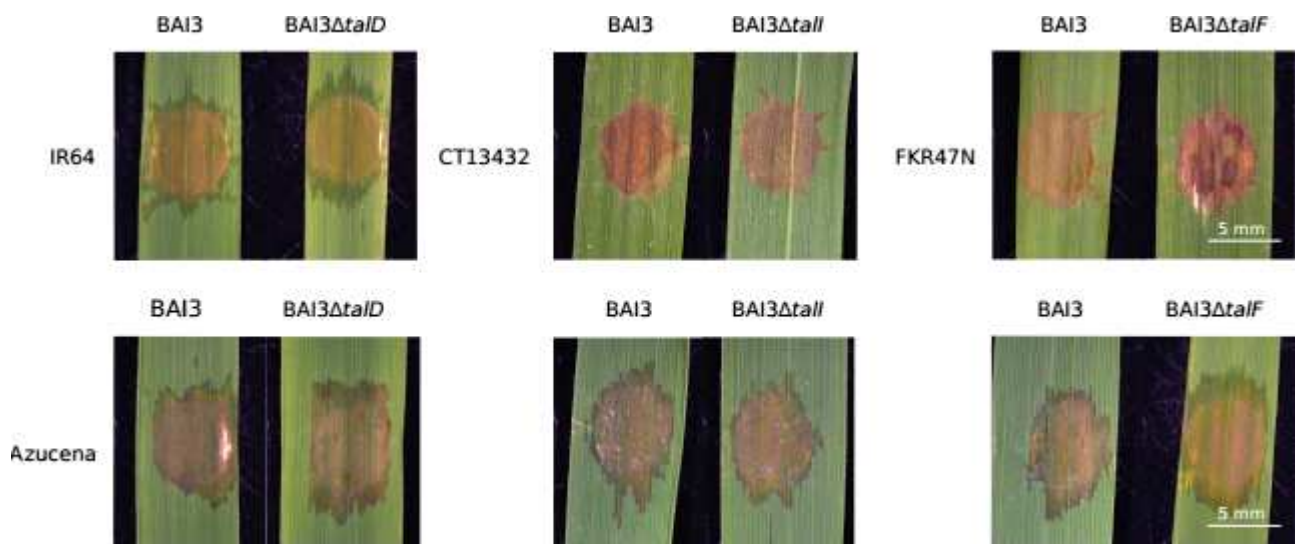


Figure S3. Phenotypic responses upon leaf-infiltration of CT13432 and FKR47N plants with *BAI3ΔtalI* and *BAI3ΔtalF* mutants.

Leaves of rice varieties IR64, CT13432, FKR47N and Azucena were infiltrated with the wild type African *Xoo* strain *BAI3* and the mutant derivatives *BAI3ΔtalD*, *BAI3ΔtalI* and *BAI3ΔtalF*. Inoculated leaves were photographed at 5 dpi.

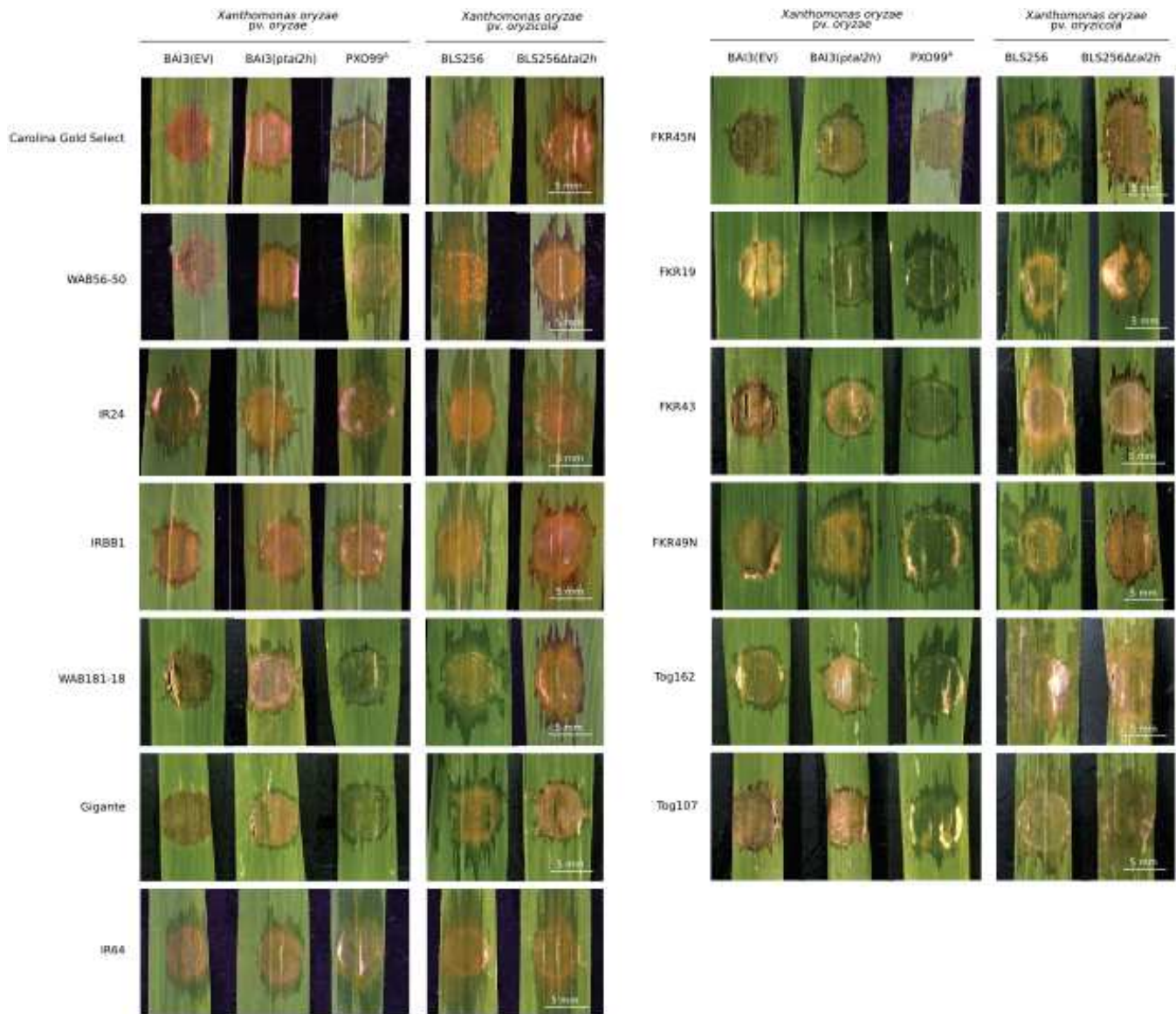


Figure S4. The *tal2h* truncTALE reveals *Xa1*-like resistance against the *Xoo* strain BAI3 in several rice varieties.

Leaves of rice accessions, including Carolina Gold Select which carries *Xo1*, and IRBB1 which carries *Xa1*, were infiltrated with *Xoc* strain BLS256 which naturally carries the *tal2h* truncTALE gene, the mutant strain BLS256 Δ *tal2h*, as well as with *Xoo* strain BAI3 carrying an empty vector (EV) or *tal2h*. The Asian *Xoo* strain PXO99^A which harbors two truncTALEs, was used as an additional positive control. Leaves were photographed at 5 dpi.

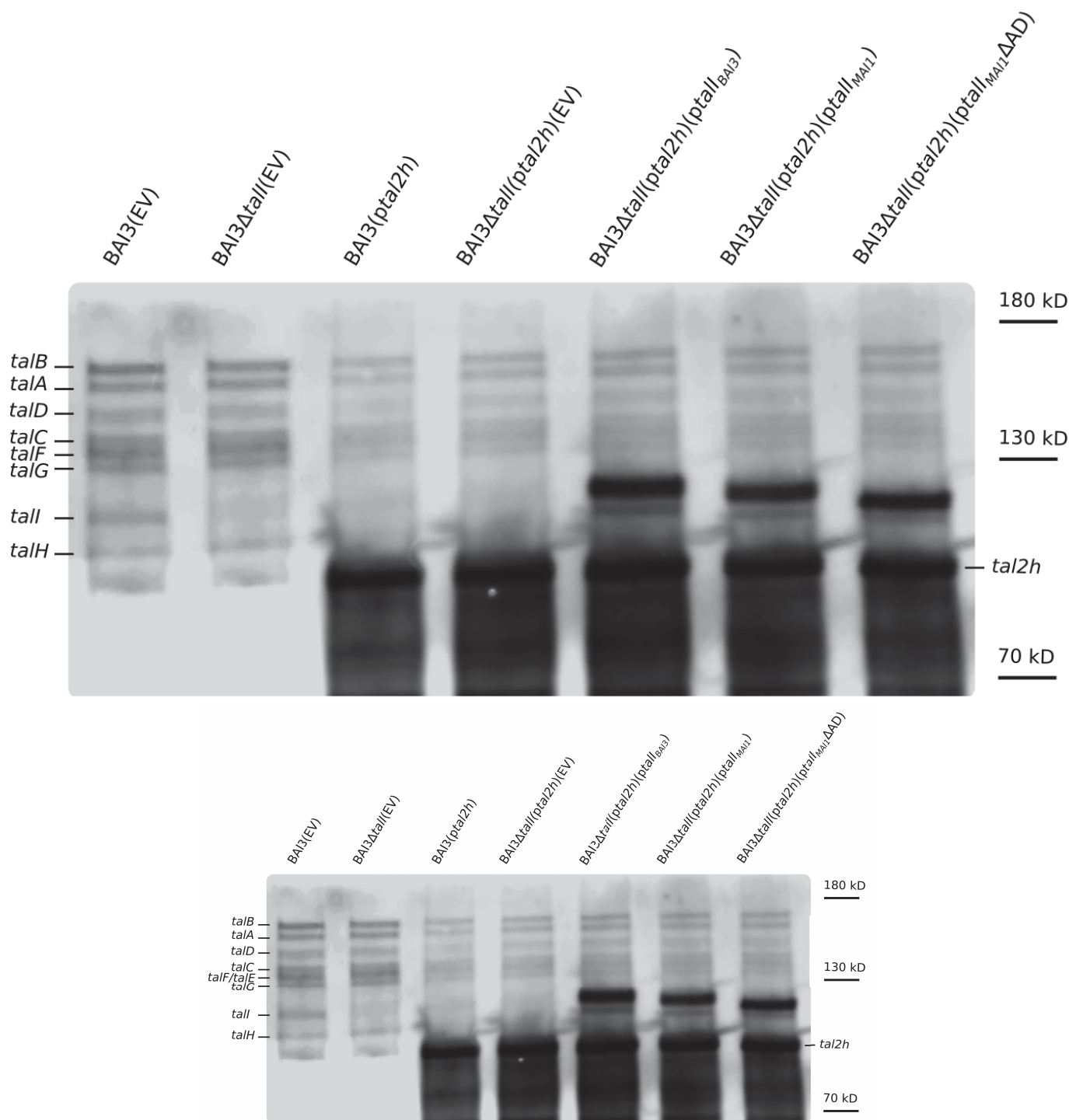


Figure S5. Western-blot analysis of *Xoo* total protein extracts using an anti-TALE antibody.

Proteins extracts prepared from *Xoo* strain BAI3 carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3Δ*talI* carrying the empty vector pKEB31 (EV), BAI3 carrying the *tal2h* truncTALE gene, and BAI3Δ*talI* with *tal2h* and the pSKX1 empty vector (EV), or pSKX1 containing *talI*_{BAI3} or *talI*_{MAI1} or *talI*_{MAI1}ΔAD. BAI3 *tal* genes and *tal2h* are indicated to the left and right, respectively. Molecular weight is indicated.

O. glaberrima set

Name§	Country of collection	Sample ORSTOM ID	IRRI IRGC accession #	IITA accession (TOG #)	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
Og_142	Senegal	CG14	96717	CG 14*	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_49	Nigeria	96793	96793	5681	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	MR
Og_81	Guinea	6205	NA	6205	<i>O. glaberrima</i>	R	R	R
Og_94	Liberia	6308	NA	6308	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	S
Og_107	Sierra Leone	96888	96888	7020	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S
Og_187	Gambia	8527	NA	8527	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	MS
Og_97	Liberia	6356	115598	6356	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_106	Sierra Leone	6951	NA	6951	<i>O. glaberrima</i>	R	S	MR
NA	Unknown	6710	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	S
Og_110	Mali	7108	NA	7108	<i>O. glaberrima</i>	R	MS	S
Og_500	Guinea	YG104	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	S	MS
Og_489	Senegal	CG170	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	S	S
Og_162	Chad	7255	NA	7255	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	S
Og_108	Sierra Leone	7047	NA	7047	<i>O. glaberrima</i>	R	S	R
Og_22	Nigeria	5453	5453	5453	<i>O. glaberrima</i>	R	S	-
Og_103	Liberia	6698	NA	6698	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	MS
Og_69	Nigeria	5984	NA	5984	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_96	Liberia	6343	NA	6343	<i>O. glaberrima</i>	MR	MR	MR
Og_485	Senegal	CG140	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_507	Guinea	YG325	104189	12438	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_131	Côte d'Ivoire	10449	NA	10449	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MS
Og_496	Senegal	OG19	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	-	MR
Og_181	Burkina Faso	7451	NA	7451	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_510	Guinea	YG367	104371	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_475	Senegal	CG46	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	R	MR	R
Og_213	Guinea	12401	NA	12401	<i>O. glaberrima</i>	-	MS	MS
Og_73	Nigeria	6142	NA	6142	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_504	Guinea	YG301	104182	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_498	Senegal	SG329	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	R
Og_154	Guinea	YG353	104194	12444	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	MR
Og_180	Burkina Faso	7449	NA	7449	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_67	Nigeria	5976	NA	5976	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MR
Og_105	Sierra Leone	6943	NA	6943	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_104	Sierra Leone	6790	NA	6790	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	MS
Og_170	Nigeria	7280	NA	7280	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S
Og_27	Nigeria	5479	NA	5479	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_33	Nigeria	5503	NA	5503	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_151	Guinea	14367	NA	14367	<i>O. glaberrima</i>	S	S	MS
Og_243	Zimbabwe	14184	NA	14184	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_411	Côte d'Ivoire	IG35	103487	7202	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_427	Cameroon	UG20	103594	7266	<i>O. glaberrima</i>	MR	S	S
Og_153	Guinea	13709	NA	13709	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_20	Nigeria	96751	96751	5438	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_111	Nigeria	5286	NA	5286	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_7	Nigeria	5314	NA	5314	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_19	Nigeria	5437	NA	5437	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_113	Nigeria	5439	NA	5439	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_79	Guinea	86805	86805	6202	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	-
Og_116	Nigeria	5533	NA	5533	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S
Og_129	Nigeria	5997	NA	5997	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_100	Liberia	6603	NA	6603	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	S
Og_159	Mali	7219	NA	7219	<i>O. glaberrima</i>	MS	S	MS
Og_184	Côte d'Ivoire	7554	NA	7554	<i>O. glaberrima</i>	MS	MS	S
Og_163	Nigeria	12086	12086	NA	<i>O. glaberrima</i>	MS	MR	MR
Og_218	Guinea	12426	12426	NA	<i>O. glaberrima</i>	MR	MS	MR
Og_164	Nigeria	12160	12160	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_491	Unknown	OG1	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_486	Unknown	CG150	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_417	Unknown	IG269	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_10	Unknown	5326	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	S	S
Og_30	Unknown	5494	NA	NA	<i>O. glaberrima</i>	S	MS	S

O. sativa set

Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
WAB56-50	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
WAB56-104	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	S	S	S
WAB181-18	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
FKR14	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	S	S	S
FKR19	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
FKR28	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	S	S	S
FKR43	Burkina	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
IR64*	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	R	MR	S
ADNY	Unknown	<i>O. sativa</i>	R	S	S
CT13432	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	R	R	S
Gigante	Unknown	<i>O. sativa</i>	R	R	S
IR8	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i>	R	S	MS
MG12	Unknown	<i>O. sativa</i>	S	MS	S
Caiapo	Unknown	<i>O. sativa</i>	MR	S	S
Azucena	Unknown	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i>	S	S	S

O. barthii set

§ Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
530A1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S
530W1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S
523W1	Mali	<i>O. barthii</i>	R	S	S

Elite Varieties in West Africa

Name	Country of collection	Species	MAI1°	BAI3°	PXO99A°
FKR45N / NERICA 12	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR47N / NERICA 17	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR49N / NERICA 13	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>japonica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	R	S
FKR56N / NERICA-L-41	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	S	S
FKR58N / NERICA-L-60	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	R	S	S
FKR60N / NERICA-L-20	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	S	S	S
FKR62N / NERICA-L-19	Senegal	<i>O. sativa</i> spp. <i>indica</i> / <i>O. glaberrima</i>	S	S	S

Table S1. Rice accessions screened for resistance to African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and susceptibility to PXO99^A.

§ Name reference from Orjuela et al., 2014.

Accession names highlighted in bold are resistant or moderately resistant to MAI1 and BAI3, and susceptible to PXO99^A.

° Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after inoculation. Resistant (R); moderately resistant (MR); moderately susceptible (MS); susceptible (S).

There is a (-) when the strain was not tested on the accession.

The previous name of IRD (Institute of Research for Development) was ORSTOM : « Office de la recherche scientifique et technique » outre-mer.

IRRI IRGC : International Rice Research Institute, International Rice Genebank Collection.

NA means « Not Assigned », when no IRRI or ITTA name was assigned to an accession.

* genome accession sequenced.

		<i>CT13432</i>	<i>FKR19</i>	<i>FKR43</i>	<i>FKR45N</i>	<i>FKR47N</i>	<i>FKR49N</i>	<i>Gigante</i>	<i>WAB181-18</i>	<i>WAB56-50</i>	<i>IRBB1*</i>	<i>CGS^o</i>	<i>Og_162</i>	<i>Og_107</i>	<i>IR64</i>
Leaf-clipping (a)	MAI1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	BAI3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MR	MR	MR
	PXO99^A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Infiltration (b)	MAI1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	BAI3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Table S2. Prevalence of Xa1-like activity in rice accessions resistant to African *Xoo* strains MAI1 and BAI3.

(a) Resistance or susceptibility of rice to *Xoo* is expressed as a result of lesion length measurements 15 days after leaf-clip inoculation. Resistant (R); moderately resistant (MR); moderately susceptible (MS); susceptible (S).

(b) Leaf infiltration phenotypes were scored 5 days after inoculation. (+) Hypersensitive reaction ; (-) Water-soaking.

* IRBB1 is a control accession harboring the *Xa1* resistance gene.

^o Carolina Gold Select (CGS) is a control accession harboring the *Xo1* resistance gene.

Primer	Sequence (5' to 3')	Goal	Source
Tal-Ct-Fw2	GCGTTGGCCGCGTTGACCAA	Probe amplification for Southern blotting	Yu <i>et al.</i> , 2011
Tal-Ct-Rev2	GGGGCCGCATCTTGTTCCCA		
XaL-F1	ATCAGGAACTTGAAGTCCAG	Xa1 alleles identification	Ji <i>et al.</i> , 2020
XaL-R1	AACCACTGATTGCGGAAGG		
XaL-F2	CCTCCGCAATCAGTGTT		
XaL-R2	AATGTAGCAAGCGACGCACA	Estimation of LRRs number in <i>Xa1</i> alleles	
SUT1 Fw	GTCGGTCTATACAGTGATAGGTG	Amplification of the housekeeping gene <i>OsSUT1</i>	Eom JS personal communication
SUT1 Rv	GAACAGAAGATGGAGTTAGCTGT		
ΔAD Fw	CACGCATTTGATGAGGCCATGACG	Construction of pSKX1-ΔAD	This study
ΔAD Rv	TGCCGACCTGGCAGCGTCCAGCGAGGACTACAAAGACGATGACGACAAGTGAAGCTTAA		

Table S3. List of primers used in this study.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
Strains			
Escherichia coli			
DH10β	Strain used for triparental mating		Life Technologies, Rockville, MD, USA
Helper strain	used for triparental mating, helper plasmid pRK2013	Kanamycin	Figurski and Helinski 1979
Xanthomonas oryzae pv. oryzae			
PXO99 ^A	Asian strain	Rifampicin	Hopkins et al., 1992
PXO99 ^A (pSKX1 EV)	PXO99 ^A transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Gentamicin	This study
PXO99 ^A (<i>ptales</i>)	PXO99 ^A transformed with <i>tale</i> genes of MAI1 expressed in pSKX1	Rifampicin, Gentamicin	This study
MAI1	Malian strain race A3	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
MAI1(pKEB31 EV)	MAI1 transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Tetracycline	This study
MAI1(<i>ptal2h</i>)	MAI1 transformed with <i>ptal2h</i>	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3	Burkinabe strain race A1	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3(pKEB31 EV)	BAI3 transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3(<i>ptal2h</i>)	BAI3 transformed with <i>ptal2h</i>	Rifampicin, Tetracycline	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (pKEB31_EV)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pKEB31 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(pSKX1_EV)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{BAI3})	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{BAI3}	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{MAI1})	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{MAI1}	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
BAI3Δ <i>tall</i> (<i>ptal2h</i>)(<i>ptall</i> _{MAI1} ΔAD)	<i>tall</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with <i>ptal2h</i> and complemented with <i>ptall</i> _{MAI1} ΔAD	Rifampicin, Kanamycin, Tetracycline, Gentamicin	This study
Xanthomonas oryzae pv. oryzicola			
BLS256	Asian strain	Rifampicin	Bogdanove et al., 2011
BLS256Δ <i>tal2h</i>	<i>tal2h</i> knock-out mutant of BLS256	Rifampicin, Tetracycline	Read et al., 2016
Plasmids			
pSKX1_EV	Empty vector	Gentamicin	Streubel et al., 2013
<i>ptalD</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>talD</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
<i>ptall</i> _{BAI3}	pSKX1 vector expressing <i>tall</i> _{BAI3}	Gentamicin	This study
<i>ptall</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>tall</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
<i>ptalF</i> _{MAI1}	pSKX1 vector expressing <i>talF</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pSKX1-ΔAD	Vector used for the expression of <i>tale</i> ΔAD derivative	Gentamicin	This study
pSKX1- <i>talF</i> _{MAI1} ΔAD	pSKX1-ΔAD vector expressing <i>talF</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pSKX1- <i>tall</i> _{MAI1} ΔAD	pSKX1-ΔAD vector expressing <i>tall</i> _{MAI1}	Gentamicin	This study
pKEB31_EV	Empty vector	Tetracycline	Cermak et al., 2011
<i>ptal2h</i>	pKEB31 vector expressing the truncTALE <i>tal2h</i>	Tetracycline	Read et al., 2016
pSM7	Suicide plasmid for <i>tale</i> mutagenesis	Kanamycin	Cernadas et al., 2014

Table S4. Bacterial strains and plasmids used in this study.

Chapitre 2 : Identification de QTL majeurs et mineurs conférant la résistance aux souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* chez le riz (*Oryza sativa* ssp. *indica*)

Contexte

Des données générées par Gustave Djedatin pendant sa thèse, rapportent l'identification dans la variété IR64 de plusieurs loci conférant une résistance spécifique aux souches Africaines de *Xoo* (Djedatin et al., 2016). Grâce à une population de lignées recombinantes (RIL, pour *Recombinant Inbred Lines*) de génération F₉ issues du croisement entre la variété résistante IR64 (*O. sativa* ssp. *indica*) et la variété sensible Azucena (*O. sativa* ssp. *japonica* tropicale), trois QTL de résistance aux souches Africaines avaient été identifiés. Par ailleurs, l'identification (dans le chapitre 1) du TALE d'avirulence TalD chez les souches Africaines MAI1 et BAI3 induisant de la résistance dans la variété IR64 pourrait rajouter une nouvelle pièce au puzzle. L'objectif de cette partie était donc dans un premier temps de confirmer et préciser les zones QTL précédemment rapportées, et dans un second temps de vérifier l'hypothèse de l'existence d'un lien entre les QTL de résistance identifiés et ce TALE d'avirulence commun à plusieurs souches Africaines.

Matériels & Méthodes/Stratégie

Dans le but de répondre à l'objectif de ce projet, j'ai eu à ma disposition les descendants F₁₁ de la population de RIL utilisée par Gustave Djedatin lors de sa thèse (2016). Cette population, composée de 210 lignées qui ont chacune été séquencée par la technologie Illumina, possède entre 1 et 1,5 million de marqueurs SNP par lignée (collab. M. Lorieux, CIAT/IRD). Toutes les lignées disponibles (donnant plusieurs plantes en capacité d'être inoculées), soit 80 lignées, ont été criblées avec les souches Africaines de *Xoo* MAI1, BAI3 et la souche Asiatique PXO99^A, dans le but de confirmer les zones de QTL précédemment identifiées. Par ailleurs, une autre population de 542 familles F_{2:3} provenant aussi du croisement entre IR64 et Azucena était à disposition au CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombie). Certaines de ces familles ont été sélectionnées car leurs F₂ étaient recombinantes au niveau des QTL identifiés à partir de la population F₁₁ sur une distance, en paires de bases, qui varie. Pour aller plus loin et pouvoir faire le lien entre un de ces QTL de résistance et le TALE d'avirulence TalD, une partie des lignées recombinante de la population F₁₁ a été criblée avec la souche sauvage BAI3 et la souche mutante BAI3[°]*talD* portant soit un vecteur vide (EV), soit complémentée avec *talD* (*ptalD*).

Résultats & Conclusion(s)

Suite à l'inoculation de 80 lignées de la population de RIL avec les souches MAI1, BAI3 et PXO99^A, plusieurs QTL impliqués dans la résistance aux souches Africaines de *Xoo* ont pu être

identifiés chez IR64. Certains des QTL identifiés lors de cette étude coïncident avec ceux précédemment rapportés par Gustave Djedatin (2016). D'autres n'ont pas été retrouvés, mais de nouveaux QTL ont été mis en lumière. De plus, le criblage d'une partie de la population F₁₁ a permis d'établir un lien entre le QTL de résistance au niveau du chromosome 11 et le TALE d'avirulence TalD. Pour finir, l'utilisation d'une population F_{2:3} IR64 x Azucena, a permis de réduire à 25 kb l'intervalle du QTL sur le chromosome 11, diminuant ainsi le nombre de gènes candidats à seulement quatre.

Perspectives

Des analyses du transcriptome avec les souches sauvages MAI1 et BAI3, et avec la souche mutante BAI3 Δ talD transformée avec un vecteur vide, ou complémentée avec *talD*, pourraient être entreprises. Ces analyses permettraient d'identifier, d'une part, les potentiels gènes exécuteurs candidats ciblés par TalD dans les QTL sur le chromosome 11, et d'autre part, de mettre en évidence les voies communes et spécifiques de la résistance induites par MAI1 et BAI3 chez IR64.

Par la suite, le *knock-out* ou *knock-down* par édition des gènes candidats, par CRISPR-Cas9 par exemple, ainsi que le clonage de ces derniers et leur transformation dans des variétés sensibles (i.e. complémentation fonctionnelle), permettrait de confirmer que les gènes candidats sont bien responsables de la résistance observée sur IR64 suite à l'inoculation de MAI1 et BAI3.

Implication personnelle

Mathias Lorieux m'a accompagnée dans les analyses des données de cartographie, et l'utilisation des logiciels MapDisto, Qgene et QTL IciMapping. Mathias L. a également réalisé le séquençage du matériel génétique (populations), identifié les marqueurs SNP, et réalisé l'imputation de ces données avec le logiciel NOISYmputer. Les graphiques avec les données de cartographie ont été réalisés sous R et MapDisto par moi-même. Émilie Thomas a participé aux semis des lignées de la population de RIL F₁₁ pour les expérimentations, ainsi que pour la propagation des graines. Le reste des expériences a été entièrement réalisé par mes soins (inoculation des souches bactériennes, lectures des lésions, analyse des données).

Identification of major and minor QTLs conferring resistance to African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice (*Oryza sativa* ssp. *indica*)

Marlène Lachaux¹, Mathias Lorieux², Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²DIADE DIversity-Adaptation-DEvelopment of plants, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, CNRS, Montpellier, France

Abstract

Caused by the gram-negative bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), Bacterial Leaf Blight (BLB) is considered among the most devastating diseases in Asia and Africa, causing up to 50% of yield losses. Studies on the diversity of *Xoo* strains reported that African *Xoo* are genetically distant from Asian ones and they trigger specific resistance sources in rice. Nonetheless, to date few resistance QTLs or major resistance genes effective against African *Xoo* strains have been identified, compared to Asian strains. As BLB represents a major threat in West Africa, breeding programs have implemented various strategies, such as pyramiding of several *R* genes into commercial rice varieties, in order to minimize epidemic consequences.

In this study, using Recombinant Inbred Lines (RILs) from the cross between the elite *indica* IR64 variety and the tropical *japonica* Azucena landrace, a mapping analysis revealed novel, shared and specific resistance QTLs against African *Xoo* strains. Moreover, our results suggest that one of the QTL (*qABB-11*), conferring resistance to four African strains of *Xoo*, is associated to the avirulence gene *talD* which we previously have shown to promote resistance on IR64.

Introduction

The ancient domesticated crop, rice (*Oryza sativa* L.) is a staple food for much of the world's population and one of the most widely cultivated crops on Earth (Ainsworth 2008). Unfortunately, the continuous increase in production to meet the strong demand due to the population growth faces many challenges. In nature, plants face multiple abiotic stress caused by droughts, floods and extreme temperatures, or biotic stress promoted by diverse and widespread pathogens causing numerous diseases. Following the recent expansion and intensification of rice cultivation in Africa, major threats that could cause severe production losses have emerged. Indeed, since the 1980s Bacterial Leaf Blight (BLB) disease, caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), has been reported in several regions of Africa (Gonzalez et al. 2007; Verdier et al. 2012). *Xoo* represents a significant threat for agriculture and global food security, as it can cause up to 50% of yield losses depending on several parameters, as the rice variety, the environmental conditions and the host growth stage (Liu et al. 2014).

To overcome this threat, breeding programs have implemented various strategies, such as development of resistant lines or cultivars which is more effective and economical way of control than chemicals. In order to do this, *R* genes against *Xoo* are required, and thankfully, to date in rice more than 40 *R* genes have been identified and among them 12 have been cloned (Jiang et al. 2020). The identified resistance genes encode different types of proteins that suggest multiple mechanisms of resistance to *Xoo*. Of the 12 rice *R* genes characterized to date, only 3 (*Xa3/Xa26*, *Xa4*, and *Xa21*) encode protein kinases and 9 (*Xa1*, *xa5*, *Xa7*, *Xa10*, *xa13*, *Xa23*, *xa25*, *Xa27*, *xa41*) involve *Xanthomonas* TAL effectors. Four of them are executor (*E*) genes (*Xa7*, *Xa10*, *Xa23* and *Xa27*) uniquely induced by TALEs found in Asian *Xoo* strains (Hopkins et al. 1992; Gu et al. 2005; Wang et al. 2014), four are recessive loss-of-susceptibility resistance alleles including *xa5* (*OsTFIIA γ 5*), *xa13* (*OsSWEET11*), *xa25* (*OsSWEET13*), and *xa41* (*OsSWEET14*) (Römer et al. 2010; Liu et al. 2011; Hutin et al. 2015), and only one, *Xa1*, encodes an NLR (nucleotide-binding domain leucine rich repeat) (Yoshimura et al. 1998). Widely deployed in breeding programs as single *R* gene, some of them were unfortunately overcome by certain races of the pathogen. For example, strains with mutated *avrXa7* overcome the resistance mediated by *Xa7*, and the deployment of *Xa4* on 80% of total rice farming area in Philippines favored the emergence of *Xa4*-overcoming strains (Mew 1992; Vera Cruz et al. 2000; Quibod et al. 2020). Moreover, the resistance gene *xa5*, yet effective against a broad spectrum of *Xoo* strains, is ineffective against strains that possess the TALE gene *pthXo1* such as PXO99^A and PXO71 (Huang et al. 2016). Therefore, to prevent breakdown of resistance due to pathogenic variation in *Xoo*, enhancing host resistance by pyramiding two or more effective resistance genes into commercial rice varieties, is considered the most effective strategy to achieve durable disease resistance in rice. For example, the resistance genes *Xa7* and *Xa21* have been

introgressed into the susceptible line "Minghui 63", a restorer line widely used in hybrid rice production in China. This line and others having only one of the resistance genes were evaluated for resistance after inoculation with 10 isolates of pathogens, and the pyramided double resistance line "Minghui 63" showed a higher level of resistance to BLB than the others, clearly indicating that pyramiding of dominant genes is a useful approach for improving BLB resistance in rice (Zhang et al. 2006).

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* strains from Asia and their counterpart from Africa although having the same mode of infection, differ in some points. First, they are genetically distant from each other and the African *Xoo* lineage is closer to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) which is the causal agent of bacterial leaf streak (Poulin et al. 2015). Moreover, a particular feature of African *Xoo* is their restricted TALome (*tal* genes repertoire) compared to Asian *Xoo*, with up to 9 and 19 copies respectively. Furthermore, no TALE is conserved between African and Asian strains (Lang et al. 2019), suggesting that they promote different sources of resistance. While many studies have been conducted these last years on Asian *Xoo* strains in order to identify effective resistance sources in rice germplasm, much less is known about African *Xoo* which were discovered more recently. Nonetheless, some works have reported the identification of resistance sources against African *Xoo*. IRBB Near-Isogenic Lines (NILs) introgressed with *Xoo* resistance genes were screened against several African *Xoo* strains. Some of them showed resistance phenotype, indicating the existence of underlying resistance genes that could be useful to control African *Xoo* (Gonzalez et al. 2007; Tekete et al. 2020). Moreover, Djedatin et al. identified, upon screening of a rice germplasm, 20 accessions of *O. glaberrima* highly resistant to the Malian *Xoo* strain MAI1 and two accessions moderately resistant to the Burkinabe *Xoo* strain BAI3. For *O. sativa*, five accessions were identified to be highly resistant to the African *Xoo* strains MAI1, BAI3 and BAI4 (Djedatin et al. 2011). To provide new resistance sources to breeders, improved varieties such as NERICA (NEw RICE for Africa) were also tested. NERICA varieties are derived from the interspecific crosses between Asian *O. sativa* spp. known for their high yield, and African *O. glaberrima* accessions which are adapted to withstand various local biotic and abiotic stresses. Among the 11 elite rice varieties tested, five of them were shown to control the three African *Xoo* strains assessed in this study, while Asian *Xoo* strains turned out to be virulent on the same varieties (Wonni et al. 2016). Djedatin et al. (2016) identified resistance sources in the elite rice variety IR64 against four African *Xoo* strains, from three different races. Using a population of Recombinant Inbred Lines (RILs) resulting from the cross between the elite variety IR64, highly resistant to African *Xoo* strains, and the susceptible variety Azucena, they were able to identify five quantitative trait loci (QTLs) of resistance on chromosomes 1, 7, 9, 10 and 11. Of these QTLs the one on chromosome 11 is shared by African and Asian *Xoo* strains (Djedatin et al. 2016). Recently, Bossa-Castro et al. (2018) also

mapped several disease resistance QTLs effective against African *Xoo* strains using Multiparent Advanced Generation InterCross (MAGIC) populations for interval mapping (IM) and GWAS analyses. The QTLs of resistance identified were located on most of the 12 chromosomes but not on chromosomes 3, 6, 8 and 9 (Bossa-Castro et al. 2018). Interestingly, the QTL of resistance found on the chromosome 11 which confers resistance to African and Asian *Xoo* strains, seems to be also effective against *Xoc* (Djedatin et al. 2016; Bossa-Castro et al. 2018). More recently, Lachaux et al. shed light on the presence of an *Xa1*-like resistance source effective against African *Xoo* in six *O. sativa* spp. accessions and three NERICA varieties. Besides, the TAL effector TalD from the MAI1 and BAI3 strains was found to act as an avirulent factor on the IR64 variety, highlighting another mechanism of resistance against African *Xoo* (Lachaux et al. preprint).

In this study, in order to identify underlying resistance sources against African *Xoo* strains, populations of RILs of F₁₁ and F₃ generation from the cross between the highly disease resistance elite *indica* variety IR64 and the highly susceptible *japonica* variety Azucena, were used to evidence resistance QTLs by mapping analysis. In a previous study, two resistance loci against African *Xoo* strains were identified on chromosome 7 and 11, located in an interval defined by markers RM481 and RM214 (representing ~10 Mb), and by markers RM224 and RM144 (representing ~1 Mb), respectively, mapped on Nipponbare (Djedatin et al. 2016). Herein, we report on the identification of new loci of resistance against African *Xoo* and the base pairs reduction of the interval of these two previous QTLs on chromosomes 7 and 11. Moreover, we show a correlation between the presence of *talD* and the resistance phenotype conferred by the QTL on chromosome 11 suggesting that TalD-mediated resistance could depend on a gene localized in this QTL.

Generation of RILs from the IR64 x Azucena Population	<i>Xoo</i> strains	Lesion lengths (cm) on		
		IR64	Azucena	RILs
F ₁₁	MAI1	1.6 ± 0.5	16.5 ± 4.7	0.1 to 40
	BAI3	6.9 ± 2.7	22.8 ± 8.3	0.5 to 40
	PXO99 ^A	17.5 ± 2.3	21.0 ± 4.6	0.8 to 38

Table 1. Lesion lengths induced by African *Xoo* on recombinant inbred lines of the F₁₁ generation and their parents.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Results

Combination of two data sets before mapping analyses

Prior starting the analyses, since our data are based on the analysis of an F₁₁ population itself deriving from an F₉ population which was described in previous reports (Djedatin et al 2016), we first considered completing our dataset (80 lines of the IR64 x Azucena F₁₁ population) with Djedatin's data consisting in 148 lines of an IR64 x Azucena F₉ population. When a data for a line family was available in both datasets, we kept our data for subsequent analyses. In contrast, when a data was missing from our dataset and available in Djedatin's, we included Djedatin's data, leading to a total of 159 RILs to be used for our analyses.

Screening of the IR64 x Azucena F₁₁ population with *Xoo* strains

In order to identify resistance sources against the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, 80 F₁₁ lines resulting from a cross between IR64 x Azucena were screened. The average lesion lengths induced by *Xoo* African strains on IR64 and Azucena were respectively of 1.6 cm ± 0.5 and 16.5 cm ± 4.7 with *Xoo* MAI1; and of 6.9 cm ± 2.7 and 22.8 cm ± 8.3 with BAI3. The disease scores of the RILs range widely, from as low as 0.1 cm to as high as 40 cm, and 0.5 cm to 40 cm with *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively (Table 1). Here, the continuous variation of the mean of lesion lengths indicates the existence of several QTLs underlying the segregation of resistance (Fig. 1). Regarding the overall distribution of lesion lengths caused by BAI3 on the population of RILs, there is no concentration of phenotypic value around a particular one. Additionally, as shown in Fig. 2, the density curve of the lesion lengths exhibits for BAI3 an approximately normal distribution with transgressive segregation towards both directions, meaning here that the *Xoo* strain BAI3 is controlled by several minor QTLs of resistance. A contrario for MAI1, the density curve shows a phenotypic concentration around the same value, meaning that one major QTL and some minor ones are likely controlling the resistance to *Xoo* strain MAI1 (Fig. 2). Both parents, IR64 and Azucena, are susceptible to Asian *Xoo* strain PXO99^A with an average lesion length of 17.5 cm ± 2.3 and 21 cm ± 4.6, respectively. The lesion lengths of the RIL population inoculated with PXO99^A range from 0.8 to 38 cm (Table 1), and the continuous variation of lesion means indicates that some resistance to the Asian strain is also controlled by QTLs (Fig. 1). Moreover, the distribution in the RILs population of the lesion lengths caused by PXO99^A does not show a concentration of phenotypic value at the same point, as depicted by the density curve which exhibits an approximately normal distribution with transgressive segregation towards both directions. These data indicate that PXO99^A is controlled by several minor QTLs of resistance (Fig. 2).

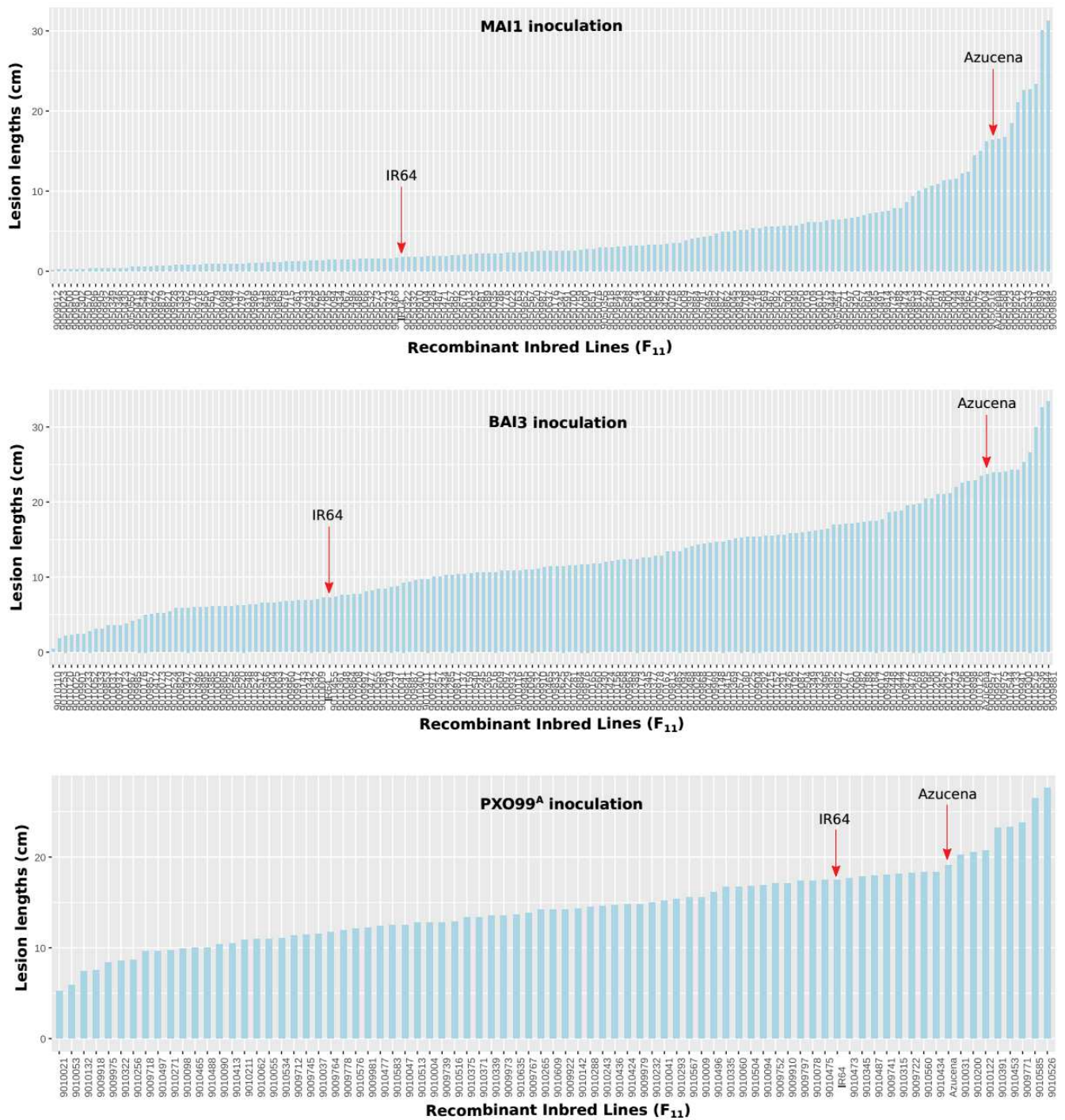


Figure 1. Lesion lengths distribution in the F_{11} population following inoculation with African and Asian strains of *Xoo*.

Leaves of RILs from the IR64 x Azucena F_{11} population and of the two control parental varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and with the Asian *Xoo* strain PXO99^A, by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of four measurements of three repetition.

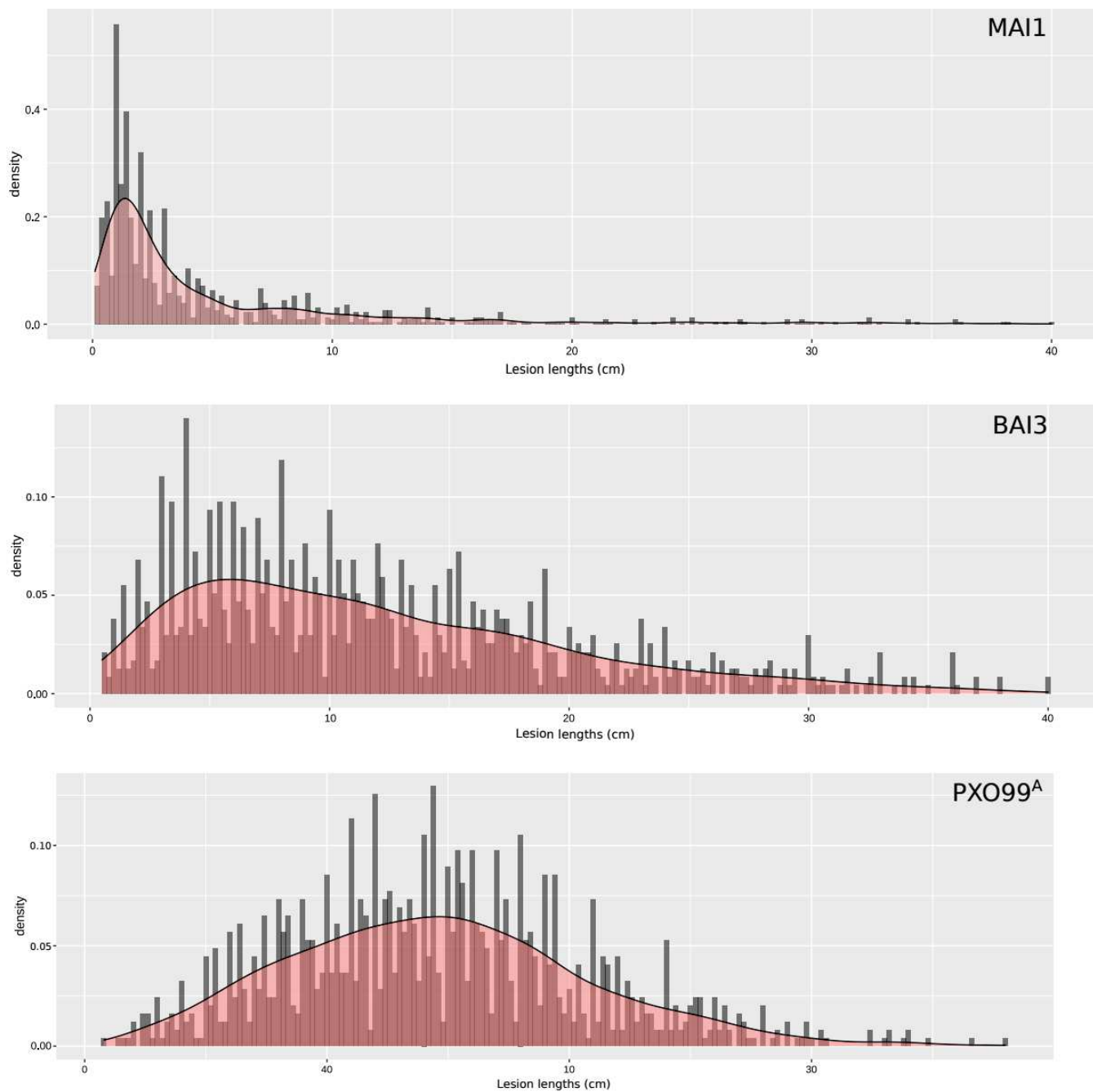


Figure 2. Density curve of the lesion lengths of the F_{11} population following inoculation with African and Asian *Xoo* strains.

Histogram of lesion lengths distribution on the IR64 x Azucena F_{11} population and the rice control varieties IR64 and Azucena, representing the lesion length counts for MAI1, BAI3 and PXO99^A *Xoo* strains. The red curve represents the density of the lesion length counts.

Identification of Resistance Quantitative Trait Loci using SNP markers

The genetic map used in this study for the IR64 x Azucena F₁₁ population was composed of 1 to 1.5 million SNP markers called from the IR64 genome. The imputed collapsed SNP x RILs matrix obtained after removing the SNPs located outside of the recombination breakpoints, ended up with 12,506 SNP markers. The SNPs covered 1492.1 cM of the genome with an average inter-marker interval of 0.119 cM. Analysis of variance (ANOVA) carried out using the MapDisto software (Lorieux 2012), evidenced seven putative QTLs providing resistance against the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and two putative QTLs against the Asian *Xoo* strain PXO99^A (Table 2; Fig. S1). Two of them, *qABB-7* and *qABB-11*, respectively positioned on chromosomes 7 and 11, are explaining a large part of the phenotype variation, and were already reported previously (Djedatin et al., 2016). *qABB-7*, specific to MAI1, is linked to the SNP markers Chr07_6044549 and Chr07_6314584, with a LOD score of 17.7 and a percentage of variance explained (R^2) of 36%. *qABB-11*, for its part, is linked to the SNP markers Chr11_30635775 and Chr11_30871520, with a LOD score of 2 and 7.2 for MAI1 and BAI3, respectively. This latter QTL controls 5% and 18.4 % of the phenotypic variation induced by MAI1 and BAI3, respectively (Table 2). The other resistance QTLs evidenced in this study to confer resistance against MAI1 and BAI3 highlighted a more minor effect. Related to the strain PXO99^A, two QTL were evidenced on chromosomes 5 and 9. Additive effect, linked markers, LOD score value and PVE (Percentage of Variance Explained) related to the African and Asian *Xoo* strains are summarized in Table 2. The estimated additive effects from the ANOVA show that these loci derive from the resistant parent IR64, expect for *qABB-8* and *qBB-5* which derive from Azucena. Most importantly, we were able through the use of a great number of markers to decrease the QTL size intervals of *qABB-7* and *qABB-11*, previously identified by Djedatin *et al.* (2016), from 10 Mb to 300 kb, and from 1 Mb to 250 kb, respectively. Previous work reported *qABB-11* to be involved in the resistance against the four following African *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3 (Djedatin et al., 2016). Since these four *Xoo* strains evidence the same QTL, we made the hypothesis that this major resistance QTL might be elicited by a conserved type-3 effector.

Association of *qABB-11* with the presence of TalD

Owed to their importance in the Rice-*Xoo* pathosystem, we first paid attention to TAL effectors repertoires. As shown in Fig. 3, our analysis show that all four strains display a similar set of TALEs clustered in nine groups, including four that are absolutely monomorphic namely TalC, TalD, TalE and TalG. In a previous study, Lachaux et al. reported the role of TalD in the avirulence activity of BAI3 on IR64 (Chapter 1). TalD being highly conserved between the four African *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3 (Fig. 3), we aimed at testing whether this TAL effector could be

<i>Xoo</i> strains	Country of origin	QTL localization: chromosome	QTL name	$-\log_{10}(p)$	LOD score	Closely linked markers	Marker position (cM)	Additive effect	Donor Allele	PVE (%)
MAI1	Mali	3	<i>qABB-3a</i>	3	2.4	Chr03_34450781- Chr03_34491227	146.02	0.03	IR64	5.9
		4	<i>qABB-4</i>	2.7	2.1	Chr04_18387103- Chr04_18407020	40.96	0.03	IR64	5.2
		7	<i>qABB-7</i>	18.5	17.7	Chr07_6044549- Chr07_6314584	37.92	0.7	IR64	36
		11	<i>qABB-11</i>	2.6	2	Chr11_30635775- Chr11_30871520	87.15	0.03	IR64	5
BAI3	Burkina Faso	3	<i>qABB-3b</i>	3.3	2.7	Chr03_3985130- Chr03_4006689	22.87	0.04	IR64	7.3
		8	<i>qABB-8</i>	3	2.4	Chr08_27811802- Chr08_27830287	93.85	-0.04	Azucena	6.5
		11	<i>qABB-11</i>	7.9	7.2	Chr11_30635775- Chr11_30871520	87.15	0.07	IR64	18.4
PXO99 ^A	Philippines	5	<i>qBB-5</i>	3.9	3.2	Chr05_25230006 - Chr05_25230041	93.89	-1.8	Azucena	16.3
		9	<i>qBB-9</i>	4.5	3.9	Chr09_19297877- Chr09_19665133	57.65	1.9	IR64	19.1

Table 2. List of QTL revealed by the inoculation of African and Asian *Xoo* strains on the F₁₁ IR64 x Azucena population.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

$-\log_{10}(p)$: represent the logarithm of the p-value

LOD : Logarithm of odds

PVE : Percentage of Variance Explained

associated with the resistance conferred by *qABB-11* towards the tested African *Xoo*. To this end, we searched for RILs in the F₁₁ population that would be carrying the IR64 alleles at *qABB-11* while maintaining Azucena alleles at the level of the other QTLs targeted by BAI3 and MAI1. Unfortunately, this combination was not found in our population, so we selected lines that were IR64 at *qABB-11*, Azucena at *qABB-4* and *qABB-7*, and Azucena or IR64 at *qABB-3b* and *qABB-8*. Only three RILs corresponding to most of our criteria were available, and were named K11_9009985, K11_9010412 and K11_9010488. As shown in Fig. 4, the selected lines and control plants were next leaf-clip inoculated with the wild-type *Xoo* BAI3, and the BAI3 Δ *talD* derivative mutant strain carrying either an empty vector (EV) or complemented with TalD (*ptalD*). Notably, as expected the three strains produced WT-like symptoms on Azucena with lesion lengths close to 25 cm, indicating that the inactivation of *talD* did not affect BAI3 virulence, as previously seen in Chapter 1.

BAI3 promoted reduced lesions on the two RILs K11_9009985 and K11_9010412, probably because these RILs harbor two resistance loci to BAI3, either *qABB-8* and *qABB-11*, or *qABB-3b* and *qABB-11*, respectively. In contrast, an increase of lesion lengths was observed on K11_9010488, potentially because only the locus of resistance, *qABB-11*, is present in this line (Fig. 4). These results suggest that the combination of *qABB-11* with other resistance loci, such as *qABB-3b* or *qABB-8*, is required for optimal resistance in IR64.

When *talD* was inactivated in the mutant strain BAI3 Δ *talD*, an increase in lesion lengths is observed to certain extent upon the inoculation of IR64, but more strikingly when the RILs K11_9009985 and K11_9010412 were challenged (Fig. 4). *qABB-11* being the only QTL common to IR64 and the two RILs, this raised the hypothesis that TalD might be involved in triggering the *qABB-11* resistance. As a matter of fact, complementation of BAI3 Δ *talD* with a plasmid-borne copy of *talD* restored the capacity of the strain to trigger resistance on IR64, K11_9009985 and K11_9010412 (Fig. 4). Elevated resistance was also observed upon inoculation of K11_9010488 although it only has *qABB-11*. We assume here that the overexpression of *talD* is sufficient to promote such phenotype. Overall, these observations suggest that the locus *qABB-11* is connected to the presence of TalD, but that this locus is not sufficient to promote resistance if it is not induced in combination with either *qABB-3b* or *qABB-8*.

Strains of *Xoo* with RVD variations in TalD are virulent on IR64

Upon a comparative analysis of the TALomes of a dozen of African *Xoo*, Doucouré et al. (2018) showed some strains to encode a new variant of the TalD group that was previously shown to be conserved across MAI1, BAI3, and CFBP1947. In order to test if this one polymorphic RVD variation could affect *Xoo* TalD-dependent avirulence activity on IR64, six Malian *Xoo* strains

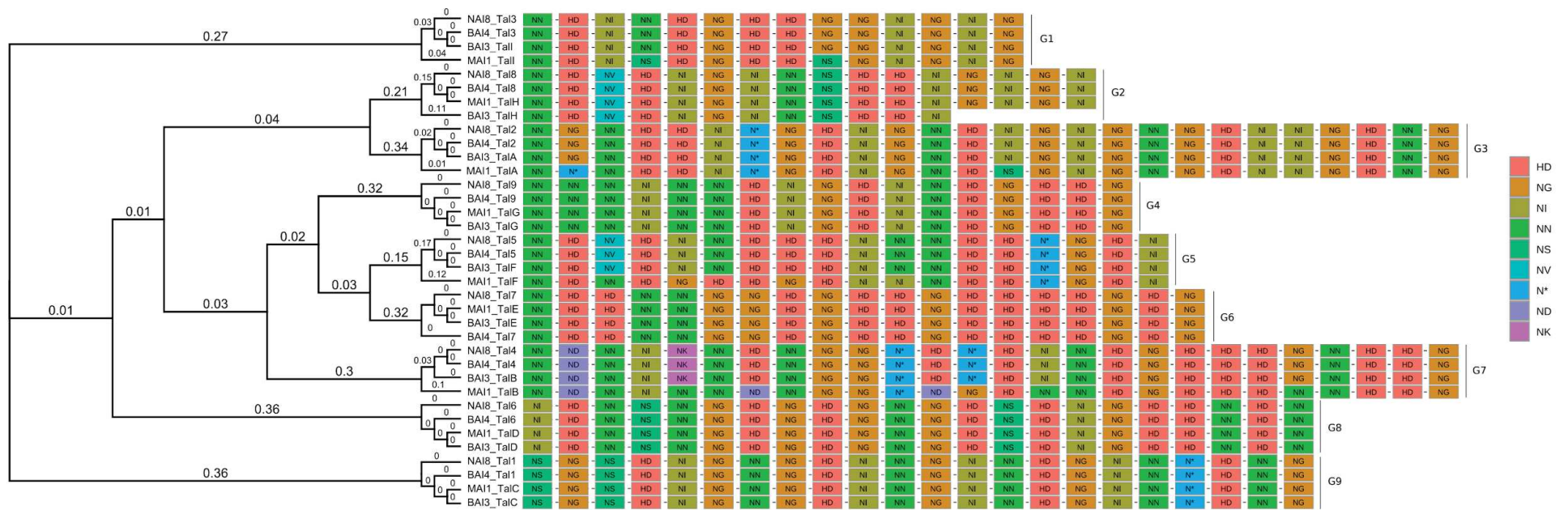


Figure 3. RVD sequences comparison of the TALome of *Xoo* strains NAI8, BAI4, MAI1 and BAI3.

FuncTAL was used to estimate distances based on the predicted TALE affinity. The dendrogram on the left shows estimated relationships, where numbers represent the distance between the position weight matrices calculated for each TALE. Central alignments depict RVD strings for each TALE variant, where each box represents a repeat with its RVD. Boxes are colored according to RVD type. Labels on the right indicate the different groups of TALEs.

harboring the TalD new variant were inoculated on IR64 and the Azucena susceptible control (Fig. 5; Table S1). Interestingly our results show that IR64 is susceptible to strains MAI106, MAI145 and MAI99, characterized by an average lesion length ranging from 12 to 16 cm. Two other strains, MAI73 and MAI95 were also able to cause lesions that were significantly longer than the ones caused by *Xoo* MAI1 on IR64. Although still preliminary, these results suggest that a variation in TalD RVDs may affect its avirulence activity. Moreover, in a systematic RFLP-based analysis of the TALome of about 200 *Xoo* strains from Burkina Faso (Diallo et al., in prep), the strain BAI192 was found to be lacking a *talD*-RFLP band and therefore included in our assay. Interestingly, this strain remained fully avirulent on IR64 (Fig. 5), suggesting that other signals in this strain may be at play to trigger resistance in this variety.

Fine mapping of the QTL intervals on chromosomes 7 and 11

In addition to the IR64 x Azucena F₁₁ population, another population of segregating lines composed of 542 F_{2:3} families also deriving from the cross between IR64 and Azucena was made available to us (CIAT, Colombia). The genetic map used for these F_{2:3} families was composed of 1 to 1.5 million SNP markers called from the Nipponbare genome. The imputed collapsed SNP x F_{2:3} families matrix obtained after removing the SNPs located outside of the recombination breakpoints, ended up with 15,745 SNP markers. The SNPs covered 1467.5 cM of the genome with an average inter-marker interval of 0.093 cM. Of these families, 19 were selected owed to the genotype of the corresponding F₂ that exhibited signs of recombination within QTLs *qABB-11* and *qABB-7*. Hence, they were subjected to pathogenicity assays using MAI1 and BAI3 *Xoo* strains.

The average lesion lengths induced by *Xoo* African strains on IR64 and Azucena were respectively of 0.75 cm ± 0.17 and 23.9 cm ± 4.95 with MAI1; and of 5.37 cm ± 3.02 and 28.56 cm ± 5.85 with BAI3. The disease scores of the F₃ families ranged widely, from as low as 0.2 cm to as high as 36.2 cm with MAI1, and from 1 to 40 cm with BAI3 (Table 3).

Twelve and seven families respectively segregating in *qABB-7* and *qABB-11*, as well as the two control varieties IR64 and Azucena, were inoculated with MAI1 and BAI3. Regarding *qABB-7*, the use of the F₃ lines was not helpful to downsize the QTL interval, leaving us with a 300 kb interval. With regard to the seven F₃ families segregating in *qABB-11*, we first considered the recombinants displaying Azucena allele in the QTL interval (left side of Fig. 6A), and assumed that if the resistance source to BAI3 is at the same location of these Azucena alleles, there should be no resistant plants in the F₃. Moreover, as the genotype of these lines for *qABB-8* is the same, this QTL can be ignored for now. These four families all displayed at least four F₃ resistant plants (lesion lengths < 10 cm), meaning that the resistance source is not located where the Azucena alleles are. Plus, as the distribution of lesion lengths in the F₃ progeny is not significantly different between

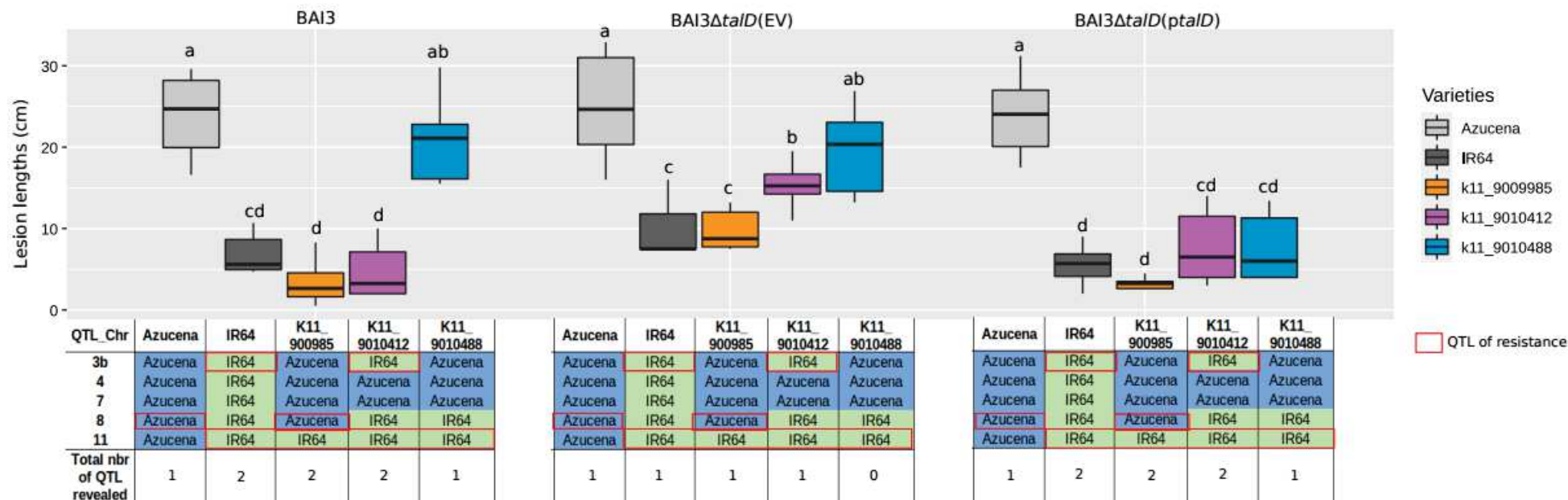


Figure 4. Linkage of an avirulent TALE to the QTL on chromosome 11 conferring resistance to African *Xoo* strains.

Leaves of three RILs from the IR64 x Azucena F_{11} population, selected to be IR64 at the genetic level on at least the QTL on chromosome 11, and of the two control varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3, and with the mutant strain BAI3 Δ talD either carrying an empty vector (EV) or complemented with *talD* (*ptalD*), by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Statistical tests were realised under R software using the non-parametric test KRUSKAL-WALLIS and DUNN TEST. Below, the tables represent the genotype of each QTL for each RIL and the two control varieties, as well as the total number of potentially induced QTL based on the inoculated strain. Highlighted with a red box the presence of resistance QTL in the genome of each RIL and control varieties.

these four families, the two markers with different alleles in the 3009771 F₂ cannot be considered to reduce the QTL interval size. Regarding these results, the size of the QTL interval can be reduced to the six first markers (Fig. 6B).

Next, we looked at the families with IR64 in the QTL interval (right side of Fig. 6A). Comparing the families 3009540 and 3009548 displaying contrasted phenotypes of resistance and susceptibility respectively, the F₂s all share the same allelic content at the QTL on chromosome 3. Moreover, the QTL on chromosome 8 is either completely IR64 – so is not containing the resistance source as it is provided by the Azucena parent – for 3009540 F₂ or heterozygous (containing one copy of the allele with the resistance source) for 3009548 F₂. Regarding the QTL on chromosome 11 which is recombinant, the 3009548 F₂ has eight additional heterozygous markers in comparison with 3009540 F₂. As the QTL on chromosome 3 has a homogeneous allelic content among families, we can ignore it and focus on the QTLs on chromosomes 8 and 11. In the 3009540 F₃s, we observe many resistant plants and some susceptible plants, while in the 3009548 family very few plants are resistant and many more are susceptible. Here we observe a loss of resistance in correlation with the increase of heterozygous markers in the QTL on chromosome 11. Therefore, we can assume that the source of resistance at the *qABB-11* QTL is located within the interval defined by the eight markers in 3009548 that differ from 3009540. By intersecting the results obtained with the recombinant families with Azucena and those with IR64, we could narrow the QTL interval down to 25 kb ranging from Mrk 3 to Mrk 6 (Fig. 6B).

Synteny of QTL intervals and gene annotation

The genomic region of *qABB-7*, which is of 300 kb, and of *qABB-11*, initially of 250 kb, were aligned between the resistant and susceptible variety through the use of the Synteny View tool of the Rice Genome Hub Platform (Fig. S2, (Droc et al. 2019)). Despite the fact these regions are syntenic and include homologous genes, the Azucena genome presents more genes in these intervals than the IR64 genome. The interval of *qABB-7* displays 52 genes for Azucena while for IR64 there are 39 genes, and for *qABB-11*, 148 genes are found for Azucena, in contrast to 108 for IR64 (Table S2). Regarding the reduced interval of 25 kb for *qABB-11*, only four candidate genes could be reported, G1 to G4, each respectively coding for an RNA recognition domain-containing protein, a RHOMBOID-like protein, an expressed protein, and a GRAS domain-containing protein (Fig. 6B). The amino-acid sequence of each gene was aligned between the genome of IR64, Azucena and Nipponbare rice varieties with the program Clustal Omega (1.2.4). The protein encoded by G2 is the only one which is completely conserved, and the protein encoded by G1 is the one with most differences, between the three genomes (Fig. S3). On the opposite, from a promoter point of view, considering the 1000 bp upstream of these four genes, the G2 promoter is the less conserved,

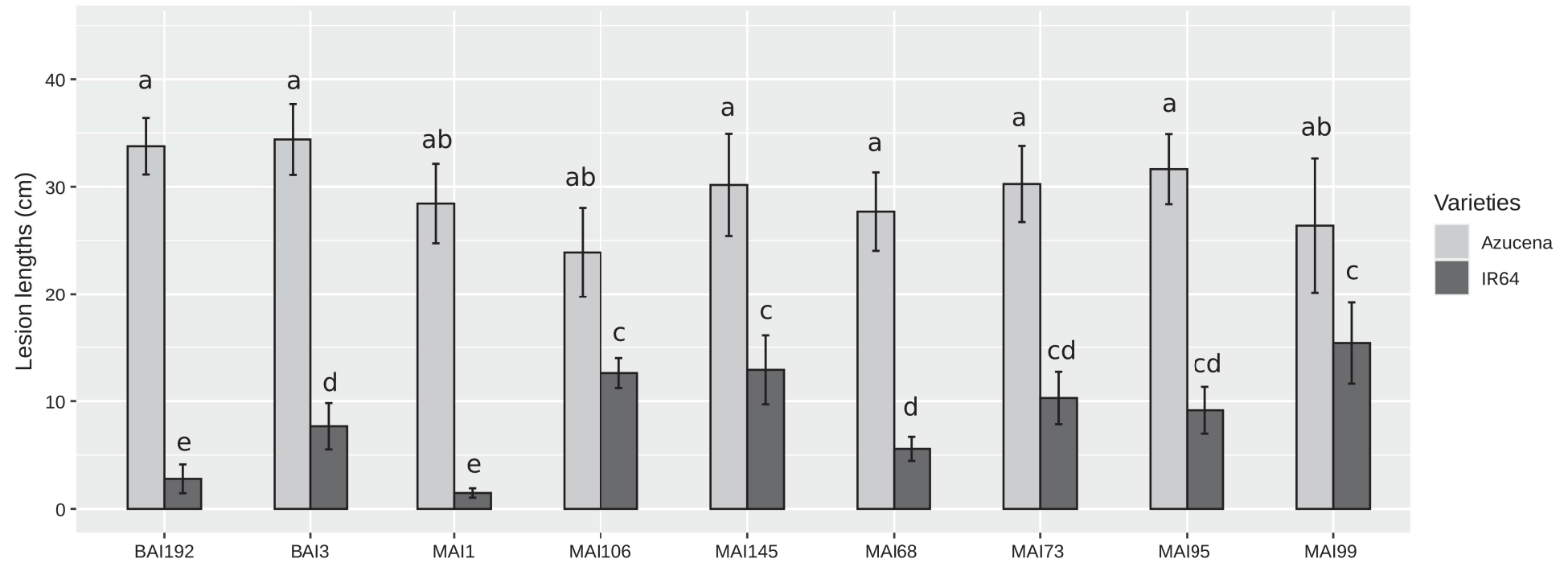


Figure 5. Evaluation of the resistance of IR64 upon inoculation of a set of African *Xoo* strains displaying diverse *talD* allelic variants.

Leaves of the rice varieties IR64 and Azucena were leaf-clip inoculated with the reference African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and a set of relevant African *Xoo* strains (Table S1). Lesion lengths were measured at 15 dpi. Data are the mean of eight measurements. Statistical tests were realized under R software using the non-parametric test KRUSKAL-WALLIS and DUNN TEST.

Generation of RILs from the IR64 x Azucena Population	<i>Xoo</i> strains	Lesion lengths (cm) on		
		IR64	Azucena	RILs
F ₃	MAI1	0.8 ± 0.2	23.9 ± 4.9	0.2 to 36.2
	BAI3	5.4 ± 3.0	28.6 ± 5.9	1 to 40

Table 3. Lesion lengths induced by African *Xoo* on recombinant inbred lines of the F₃ generation and their parents.

Xoo : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

between IR64 and Azucena or Nipponbare, with 25% of nucleotide polymorphism, and the G1 promoter is the most conserved with only 1% of nucleotide polymorphism. Regarding the G3 and G4 promoters, 6% and 4% of nucleotide polymorphism is observed, respectively.

Discussion

In this study, using a high number of SNP markers in the IR64 genome (12,506 SNP markers) and analysing a F₁₁ and a F_{2:3} IR64 X Azucena populations, we were able to down size the previously identified QTL intervals of *qABB-7* and *qABB-11* (Djedatin *et al.* 2016), from 10 Mb to 300 kb, and from 1 Mb to 25 kb, respectively. Moreover, the LOD score of these QTLs were increased from 16 to 17.7 and from 5.7 to 7.2, for *qABB-7* (MAI1) and *qABB-11* (BAI3) respectively. The increase of LOD score values reinforces the reliability of the position of these QTLs, and having downsized their interval we can assume that the underlying resistance loci are very close to be discovered. Regarding the resistance loci revealed by MAI1, two new QTLs, *qABB-3a* and *qABB-4*, were identified in the IR64 parent in this study. Unfortunately, among the QTLs already reported by Djedatin *et al.* (2016), the one on chromosome 1 explaining 13.4% of the variance observed and with a LOD score of 5, was not found even if the threshold for the LOD score was lowered to 2. It is possible that the reduced number of SSR markers (226) used in this study, compared to the 12,506 SNP markers in ours, has led to the identification of a false positive.

In this work, shared, pathogen lineage-specific, but also novel QTLs of resistance to BLB were highlighted. Indeed, in previous work Djedatin *et al.* also reported the identification of *qBB-8* (Azucena donor) as effective against the Philippine *Xoo* strain PXO86, which co-localizes with *qABB-8*, the QTL that confers resistance to the African *Xoo* strain BAI3 on chromosome 8. In the same way, herein *qBB-9* that confers resistance to the Asian *Xoo* strain PXO99^A co-localizes with *qABB-9* (IR64 donor), a previously identified QTL effective against the African *Xoo* strain NAI8. Despite the fact that African *Xoo* strains are less studied than the Asian ones, and hence more resistance sources are known against the latter, our study sheds light on novel resistance sources against African *Xoo* that could also be efficient against Asian *Xoo*. These results are a significant step forward in the search for new resistance sources against African *Xoo*, and suggest that Asian and African *Xoo* share more than virulence targets, such as the *OsSWEET* genes, and induce some resistance mechanisms in common.

Among the TALEs of African *Xoo* used in this study, TalD originally thought to be monomorphic (Tran *et al.* 2018), appeared to be variable among some Malian strains with one identified polymorphic RVD (Doucouré *et al.* 2018), or simply missing as in strain BAI192 (Diallo *et al.*, in

Figure 6. Fine mapping of the QTL interval on chromosome 11.

(A) Leaves of seven F_{2:3} families: IR64 x Azucena population, selected to be recombinant in the interval of QTL on chromosome 11, and of the two control varieties IR64 and Azucena were inoculated with the wild-type African *Xoo* strain BAI3 by leaf-clipping method. Lesion lengths were measured at 15 dpi. Below, the tables represent the genotype of the F₂ parents at each marker position of each QTL evidence by BAI3, *qABB-11*, *qABB-3b* and *qABB-8* for the seven families and the two control varieties IR64 and Azucena. Boxes in green with an "R" represent resistant alleles, in light red with an "S" represent susceptible alleles, and in yellow with an "H" represent heterozygous alleles. (B) a) Physical map of the interval of *qABB-11*, based on the reference genome of Nipponbare. Represented markers are not at equal distance in base pair from each other. b) Reduction of the physical distance of the QTL interval through the use of the F_{2:3} families recombinant with Azucena. c) Reduction of the physical distance of the QTL interval through the use of the F_{2:3} families recombinant with IR64. d) By intersecting the results obtained with the recombinant families with Azucena and these with IR64, the QTL interval is narrowed to 25 kb ranging from Mrk 3 to Mrk 6. e) Predicted genes (G1 to G4) laying in the 25 kb overlapped region in the Nipponbare genome.

prep). Recombination has been shown to be one of the most common pathways in the evolution of *tal* genes (Denancé et al., 2018; Erkes et al., 2017; Ruh et al., 2017), and since no data have been reported on the virulence activity of TalD to date, we hypothesize that this effector is conserved in *Xoo* to promote *tal* genetic diversity through recombination events. The common predicted targets between TalD of MAI1 and BAI3, and TalD of other Malian strains were evaluated among the 500 first targets found by Talvez software (Perez-Quintero et al. 2013) in the Nipponbare genome, and 80% of them are conserved. If it appears that the resistance conferred by TalD of MAI1 and BAI3 is activation domain (AD)-dependent and hence based on the induction of an *E* gene, it means that 20% of candidate genes in *qABB-11*, are specific to the TalD version of MAI1/BAI3. Based on this hypothesis, the list of candidate *E* genes in *qABB-11* could be drastically reduced.

In this study, through the use of F₁₁ and F_{2:3} IR64 x Azucena populations, QTLs of resistance were evidenced and their intervals reduced. Moreover, we have shown that TalD may be involved in the elicitation of some resistance responses implying *qABB-11* locus. We could therefore use the DNA-binding predictability of TALEs to identify a potential *E* gene in *qABB-11*, but also for *qABB-7*. Therefore, combining fine mapping with others approaches, as transcriptomics and bioinformatic EBE prediction programs to identify resistance genes would be interesting, as already done in the past. For example recently, Luo *et al.* combined fine mapping approach with RNA sequencing and gene editing approaches, leading to the isolation of the *E* gene *Xa7* (Luo et al. 2021).

Previous work by Djedatin et al. (2016), revealed that *qABB-11*, which is effective against the four African *Xoo* strains MAI1, BAI3, NAI8 and BAI4, partially overlaps with one QTL that confers resistance to the Asian *Xoo* strain PXO61, containing the known *R* gene *Xa4* (Djedatin et al., 2016). Through the screening of an IR24 x IRBB4 F₂ population with the *Xoo* strains PXO61 and BAI3, Djedatin et al. (2016) show that the potential gene promoting resistance against BAI3 is recessive, unlike *Xa4* which is dominant against PXO61, which would then clarify there are two different *R* genes in this QTL.

Previously we shown that two QTL, *qABB-11* and *qABB-3b*, are revealed by BAI3 in IR64. If there are some interactions between these two loci, the screening of the IR24 x IRBB4 population by Djedatin et al. would not have taken them into account because neither IR24 nor IRBB4 contains the resistance locus *qABB-3b*, explaining why the segregation ratio found for lines inoculated with BAI3 suggests the involvement of a recessive gene at the locus *qABB-11* (Djedatin et al., 2016). Nonetheless, the QTL interactions between *qABB-11* and *qABB-3b* are still unknown. With that in mind, the screening of an IR64 x Azucena F_{2:3} population with BAI3 seemed more appropriate to shed light on the potential interactions between these QTLs.

Regarding the experiment with the three F₁₁ lines used to evaluate the role of TalD in *qABB-11* resistance, the inoculation of the BAI3 Δ *talD* mutant complemented with *talD* upon the line 9010488 caused resistance. While the inoculation of the wild-type strain BAI3 on this same line, containing only the resistance QTL *qABB-11*, promoted disease. Herein when *talD* was over-expressed a dose effect was observed promoting resistance on this line. With that in mind, we assume that the resistance phenotype depending on *qABB-11*, is related to the amount of resistance allele, meaning that plants which are heterozygous at this QTL display an intermediate phenotype between the resistant and susceptible parent.

Regarding the four candidate genes in the 25 kb QTL interval on chromosome 11, the protein encoded by G1, an RNA recognition domain-containing protein, seems to be very different between the resistant and susceptible varieties, IR64 and Azucena or Nipponbare, respectively. Recently an RRM (RNA-recognition motif) protein was identified to promote rice resistance to blast disease, when associated with an NLR protein. When present together, these two proteins bind DNA and function as unconventional transcription factors at the promoters of the defense genes *OsWAK14* and *OsPAL1* (Zhai et al. 2019). Furthermore, in *Arabidopsis thaliana* a putative RNA binding protein was reported to positively regulate salicylic acid-mediated immunity through the inoculation of *P. syringae* pv. *tomato* (Qi et al. 2010). In this light, the G1 gene holds promise as a novel type of BLB resistance gene.

Conclusions & Perspectives

In this study we report the identification of shared, specific and novel resistance QTLs to African and Asian *Xoo* strains. Comparative analysis of the TALome in a diversity of African *Xoo* strains and phenotypic characterization allowed to correlate the resistance conferred by the QTL on chromosome 11, *qABB-11*, to the presence of TalD in BAI3. To go further, transcriptomic analyses of rice challenged with the wild-type strains MAI1 and BAI3, and with the mutant derivative strain BAI3 Δ *talD* transformed with an empty vector or complemented with *talD*, could be undertaken. These analyses would help to first, identify and confirm potential candidate executor genes in the QTL on chromosome 11, and on the other hand to evidence common and specific pathways of resistance in IR64 induced by MAI1 and BAI3.

Material and Methods

Bacterial strains and growth conditions

The *Xoo* strains used in this study are listed in the Table S1. *Xoo* strains were cultivated at 28°C on PSA medium (10 g peptone, 10 g sucrose, 1 g glutamic acid, 16 g agar, l⁻¹ H₂O). Rifampicin, kanamycin and gentamicin were added when appropriate to the medium at a final concentration of 100 µg.ml⁻¹ for each.

Mapping plant populations and growth conditions

The reference mapping population used to identify and map the BLB resistance QTLs consisted in 210 recombinant inbred lines (RILs) of F₁₁ generation from the cross between the *indica* cultivar IR64 (resistant parent) and the tropical *japonica* Azucena landrace (susceptible parent). This population derives from the IR64 x Azucena F₈ population developed by IRD (France), which was advanced to F₁₁ and used as one of the 10 sub-populations of a Nested Association Mapping (NAM) design (Fragoso et al., 2017). The second mapping population, used to reduce the size of the QTLs on chromosome 7 and 11, consisted in 542 F_{2:3} families resulting from an F₁ hybrid between IR64 and Azucena parents. All plant experiments were performed under greenhouse conditions under cycles of 12 h of light at 28°C and 80% relative humidity (RH) and 12 h of dark at 25°C and 70% RH.

Plant inoculations

Leaves of 5-week-old plants were inoculated by leaf-clipping with a bacterial suspension of an optical density at 600 nm (OD₆₀₀) of 0.2. At least three and eight plants of each line, and of IR64 and Azucena, respectively, were inoculated and lesion lengths were scored 15 days post inoculation (dpi). The experiments were reproduced three times with the mapping populations of F₁₁ and F₃ generation, and one time for the screening of African *Xoo* strains on IR64 and Azucena.

Statistical analysis

A genetic linkage map comprising 12,506 SNP markers and constructed from the IR64 x Azucena F₁₁ population was used for the mapping of resistance QTLs to *Xoo*. A preliminary QTL analysis was carried using analysis of variance (F-test), with marker genotypes as the factors, using MapDisto v. 2.1 software (Lorieux 2012). For subsequent QTL analyses, data files were prepared using the Export map and data function of MapDisto. Analyses of distribution of the phenotypic traits as well as QTL detection were performed using the Qgene v. 4.4.0 program (Nelson 2005, <http://www.qgene.org>) and QTL IciMapping v. 4.2 program (Meng et al., 2015). Different methods were compared such as Single-marker regression (SMR), Simple interval mapping (SIM), and

Inclusive Composite interval mapping (ICIM). For ICIM, a stepwise regression cofactor selection was used. The LOD score statistic was used for all methods in order to make the results comparable. Empirical thresholds to declare presence of a QTL were obtained using the resampling by permutation method, performing 10,000 (SMR) or 1,000 (ICIM) iterations for each trait/chromosome combination (log-likelihood of odds (LOD) score of 2.5).

References

- Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- Bossa-Castro AM, Tekete C, Raghavan C, et al (2018) Allelic variation for broad-spectrum resistance and susceptibility to bacterial pathogens identified in a rice MAGIC population. *Plant Biotechnol J* 16:1559–1568. <https://doi.org/10.1111/pbi.12895>
- Djedatin G, Ndjiondjop MN, Mathieu T, et al (2011) Evaluation of African cultivated rice *Oryza glaberrima* for resistance to bacterial blight. *Plant Dis* 95:441–447. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0558>
- Djedatin G, Ndjiondjop MN, Sanni A, et al (2016) Identification of novel major and minor QTLs associated with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (African strains) resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice* 9:. <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0090-9>
- Droc G, Dereeper A, Ruiz M, et al (2019) The south green rice genome hub.
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Huang S, Antony G, Li T, 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. <https://doi.org/10.1111/TPJ.13164>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Jiang N, Yan J, Liang Y, et al (2020) Resistance Genes and their Interactions with Bacterial Blight/Leaf Streak Pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in Rice (*Oryza sativa* L.)—an Updated Review. *Rice* 13:. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0358-y>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>

- Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Lorieux M (2012) MapDisto: Fast and efficient computation of genetic linkage maps. *Mol Breed* 30:1231–1235. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9706-y>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Mew TW (1992) Changes in Race Frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Response to Rice Cultivars Planted in the Philippines. *Plant Dis* 76:1029. <https://doi.org/10.1094/PD-76-1029>
- Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698. <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>
- Qi Y, Tsuda K, Joe A, et al (2010) A putative RNA-binding protein positively regulates salicylic acid-mediated immunity in *Arabidopsis*. *Mol Plant-Microbe Interact* 23:1573–1583. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-10-0106>
- Quibod IL, Atieza-Grande G, Oreiro EG, et al (2020) The Green Revolution shaped the population structure of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *ISME J* 14:492–505. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0545-2>
- Römer P, Recht S, Strauß T, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03217.X>
- Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>

- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Vera Cruz C, Leach JE (2012) Controlling rice bacterial blight in Africa: Needs and prospects. *J Biotechnol* 159:320–328. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.09.020>
- Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>
- Wonni I, Hutin M, Ouédraogo L, et al (2016) Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa. *Rice Res Open Access* 4:1–8. <https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Zhai K, Deng Y, Liang D, et al (2019) RRM Transcription Factors Interact with NLRs and Regulate Broad-Spectrum Blast Resistance in Rice. *Mol Cell* 74:996-1009.e7. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2019.03.013>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>

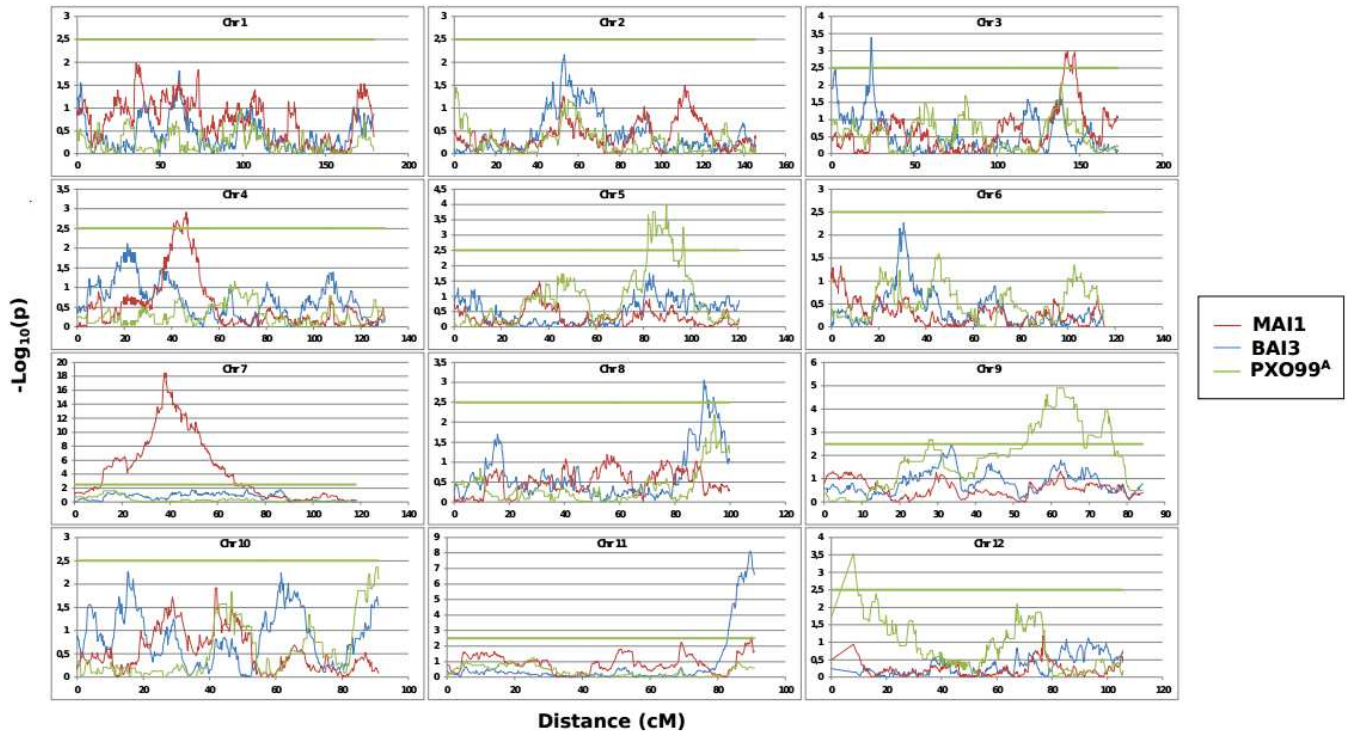


Figure S1. Graphic representation of the QTL peaks revealed by the inoculation of MAI1, BAI3 and PXO99^A.

Representation of the QTL peaks, for MAI1, BAI3 and PXO99^A *Xoo* strains, in $-\log_{10}(p)$ over the twelve chromosomes in centiMorgan (cM). The green line represents the threshold of 2.5 for QTL detection.

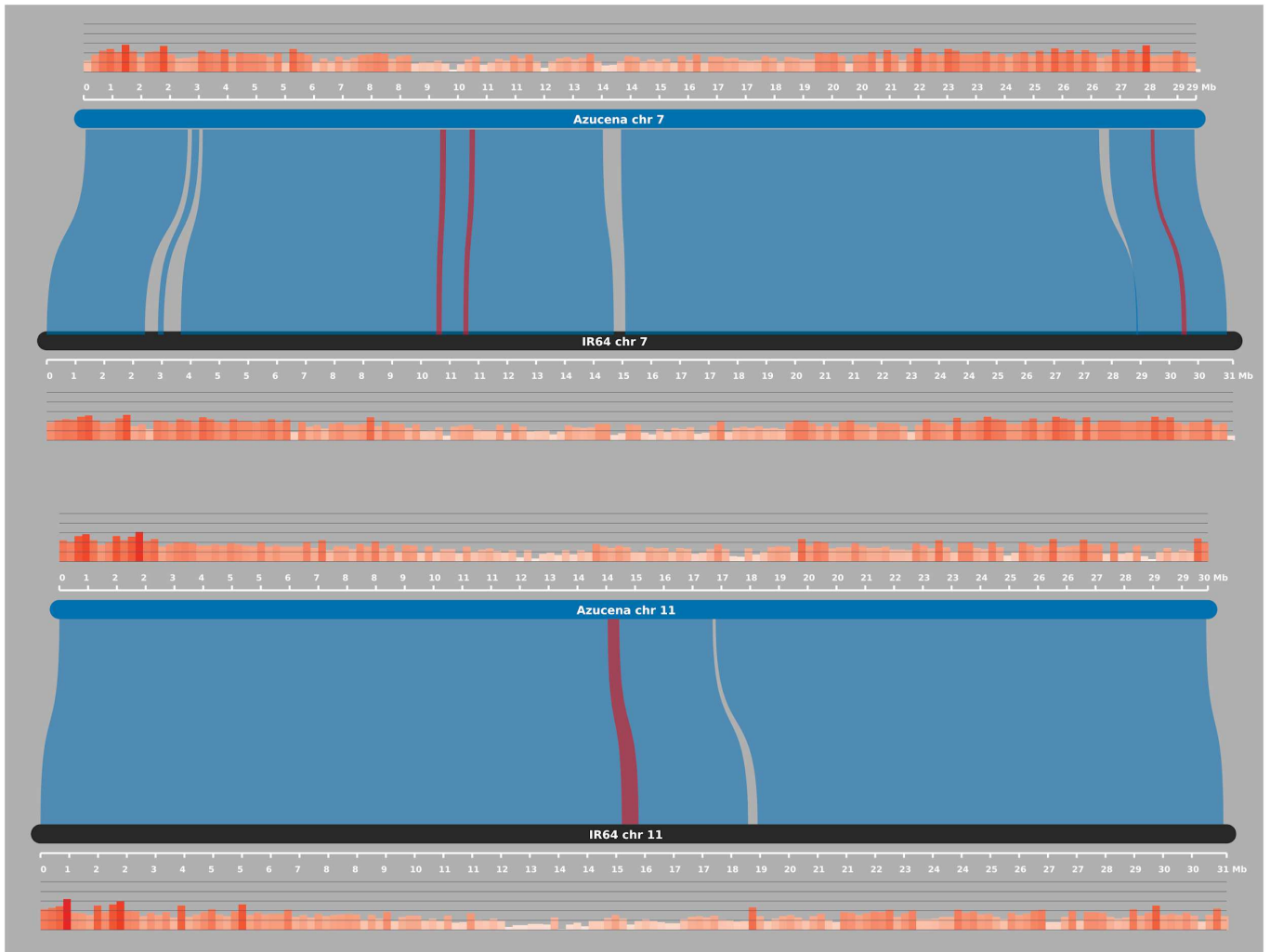


Figure S2. Synteny of chromosomes 7 and 11 between Azucena and IR64.

Synteny Viewer (Rice Genome Hub platform; Droc et al. 2019) was used to compare the synteny of the chromosomes a) 7 and b) 11, between the rice varieties IR64 and Azucena. The chromosomes in blue and grey represent the Azucena and IR64 chromosomes, respectively. Aligned regions in blue and red are regular and reversed regions, respectively. Scale and histogram bars above and below each chromosome represent the length in Mb and the gene density along the chromosome, respectively.

IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCAKDKEGAAVSLFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCAKDKEGAAVSLFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP MRSRSPSKRRRHGSRGSPSSSRHGCAKDKEGAAVSLFVSMPLPSCRPEDVQVFFQKFGP	60 60 60	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	-MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT MRSMLLQSFILWLSRRASCEFSRMPDPTPEPEPEPEPDGACGSMGSGSDELEDMT	59 56 56
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMMKMLSGREISVAFVOTRKRPEE VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMMKMLSGREISVAFVOTRKRPEE VRDYLKDYNTGEPGRGFAVEFAHSSDASKARYHMMKMLSGREISVAFVOTRKRPEE	120 120 120	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	SSPDSTGEPSSRVIIGSAIGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPSDNVGLGPITLRRRRR SSPDSTGEPSSRVIIGSAIGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPSDNVGLGPITLRRRRR SSPDSTGEPSSRVIIGSAIGIAAATVTPVWVAGTGGVPLHLPSDNVGLGPITLRRRRR	119 116 116
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRRSYTPKYKRDQYADIGRRLHLIVS MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRRSYTPKYKRDQYADIGRRLHLIVS MRIIGARHNSPQRKEECRTNSPGQPKGHEKRRRSYTPKYKRDQYADIGRRLHLIVS	180 180 180	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	LLLDPLIRVTGLVAPGSPVPRWIGCQLACPSRRCIWCVESTSCRCRHRPPSPSCRLAEGK LLLDPLIRVTGLVAPGSPVPRWIGCQLACPSRRCIWCVESTSCRCRHRPPSPSCRLAEGK LLLDPLIRVTGLVAPGSPVPRWIGCQLACPSRRCIWCVESTSCRCRHRPPSPSCRLAEGK	179 155 155
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	D--PGLCAGHPGHLQGNLILAHVPIILFISMTLEHGHALLPQEGKMTSMLPRGRS SERPWALCRSPRSPGQSS-----HSRSYSRSHSLHLDH-----ARTRSCSPAGRQ SERPWALCRSPRSPGQSS-----HSRSYSRSHSLHLDH-----ARTRSCSPAGRQ	237 228 228	IR64_G3 Azucena_G3 Nipponbare_G3	RKRERGG 186 ----- 155 ----- 155	
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	TKQN-----H-----QDR-QKDDMI CADPILLINIMNARMMLTMVLRHLRMLVSDPL DDQYASPORKEHQTKSSGQTKGDDHMRSSYTPYNECQDADN-G-----FDETPPAPDGRS DDQYASPORKEHQTKSSGQTKGDDHMRSSYTPYNECQDADN-G-----FDETPPAPDGRS	283 284 284	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDPDDLPLPFISRMLMEDDIDDKFFFYQ MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDPDDLPLPFISRMLMEDDIDDKFFFYQ MAAAPQLEELVDLEPFPSPFLDLPPTPHSDPNDPDDLPLPFISRMLMEDDIDDKFFFYQ	60 60 60
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	CMAGHPGHLQDGLIVIHVPLNLSVAMLDHGHALLPQEGKITS--LLPHRE-GRSTK SVLGRSPRSPGGRSHCHSHSRSPELRGHARSRS CSPATGRQDNQSTSPORREKHQTK SVLGRSPRSPGGRSHCHSHSRSPELRGHARSRS CSPATGRQDNQSTSPORREKHQTK	340 344 344	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTIELS FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTIELS FPDHPALLHAQQPYAQIILDAPSDDTTTNSDDOSASATNTTNSAATAANASWYPDPTIELS	120 120 120
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	QNHQDRK-NMMSADPTLLNIMI--AGMLTMVIMRRRRLMVSDPGHAG-HPSHLOD SSGQAKEHDEKRSSYTPYENDRRADNGYD-----TPPAPDGRSVALGRSPSPSP SSGQAKEHDEKRSSYTPYENDRRADNGYD-----TPPAPDGRSVALGRSPSPSP	396 397 397	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP QLLQSPHPVSDNHADVDGTRSAPEDDKDLKLLFAADNMEMLNMAFLKGREEANKLVP	180 180 180
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	GLIF IHT---RVALLNSVAIDLGHALLPPEKEMTSMPLPHERRSKONHDLR--- GRSHFHSRHSRSPDELGRAR---SRSCSPAGRQDDQYASPORKEEQTKSSROTKE GRSHFHSRHSRSPDELGRAR---SRSCSPAGRQDDQYASPORKEEQTKSSROTKE	449 453 453	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV TNNTLFAFGDGASLLKTEPAVDEPTLMFGRSGGSRGRKMRHGEEDLEAETGRSSKLMV	240 240 240
IR64_G1 Azucena_G1 Nipponbare_G1	-KNMRSDEPALLNIAIIVMLSSVMMKQTPSAEWGSKLGTVOVINTAASN HDEERRSCTPEYSDR---RDAFIGHDETPPSAEWGSKLTVOVINTAASN HDEERRSCTPEYSDR---RDAFIGHDETPPSAEWGSKLTVOVINTAASN	501 502 502	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDEAEKARNGGGAGRAARAAGAV PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDEAEKARNGGGAGRAARAAGAV PPQEDTAAASEMDFEIMFNVEYIMKMEELRVAMDEAEKARNGGGAGRAARAAGAV	300 300 300
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	MKPSPAANLDVREPRPPVPHRPGSLRARPYYRWTPIWAAIALSCVWVFLVSMYV MKPSPAANLDVREPRPPVPHRPGSLRARPYYRWTPIWAAIALSCVWVFLVSMYV MKPSPAANLDVREPRPPVPHRPGSLRARPYYRWTPIWAAIALSCVWVFLVSMYV	60 60 60	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLAGTGS VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLAGTGS VDLHTLLIHCAQAVATSDRRSATELLKQIKONSSARGDATORLACFAEGLERLAGTGS	360 360 360
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	NDCPRNSGDC AAGFLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQWRLLTC NDCPRNSGDC AAGFLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQWRLLTC NDCPRNSGDC AAGFLGRFAFOPLKENPLLGPSATLLKMGALDVTKVHGHQWRLLTC	120 120 120	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY QVYKSLVAKCTSTVDLFLKAYKFAAACIKKVSFIFSNKTLIDAVAGKRKHLIVDYGSLY	420 420 420
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQDFGVRIGLVYLISGLGGLMSALFIRSSISVGA IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQDFGVRIGLVYLISGLGGLMSALFIRSSISVGA IWLHAGVHLLINMLCLLFIGIRLEQDFGVRIGLVYLISGLGGLMSALFIRSSISVGA	180 180 180	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	GFQWPGLFKCLSEREGGPEVRITGIDFPQGFPRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPFRFQ GFQWPGLFKCLSEREGGPEVRITGIDFPQGFPRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPFRFQ GFQWPGLFKCLSEREGGPEVRITGIDFPQGFPRPADQIETGRRLSNCARQFGVPPFRFQ	480 480 480
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG SGALFGLIGSMLSELTINWSLYANKVAALLTLVFIIVNLAGILPRVDNFAHIGGLISG	240 240 240	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	AIAAKWETVRREDLHLDREEE--EGEEVVLVNCVHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI AIAAKWETVRREDLHLDREEEEEEVVLVNCVHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI AIAAKWETVRREDLHLDREEEEEEVVLVNCVHFLNALQDESUVVSDSPSRDMLVNI	538 540 540
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	FLLGFVVFIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL FLLGFVVFIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL FLLGFVVFIRPQFAWINQRRVAPGQAPVKKRKHQTYQYIWLWAAAIMLVGFTVAIVLL	300 300 300	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETLLFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETLLFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG RDMPHVFQCVVNGAYGAPFFLFRFRETLLFFYSQDFMLDATIPRONDERLLIERDILG	598 600 600
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLLADA LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLLADA LRGYNANDHCSWCHYLSVCPTRKWKCNSSPTYCTVMQANTLNLTCGENTHRSYLLADA	360 360 360	IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	RCALNVIACEGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVVELVDRKVKLLYKDFVI RWALNVIACEGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVVELVDRKVKLLYKDFVI RWALNVIACEGADRDRPETYKQMLVRNHRAGLTLPLQPOVVELVDRKVKLLYKDFVI	658 660 660
IR64_G2 Azucena_G2 Nipponbare_G2	TQDKINQLCNQLCS 374 TQDKINQLCNQLCS 374 TQDKINQLCNQLCS 374		IR64_G4 Azucena_G4 Nipponbare_G4	DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKLSF 690 DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKLSF 692 DVDHNLWLGWGRILYAMSTWVADRDKLSF 692	

Figure S3. Amino-acid alignment of the four candidate genes in the overlapped region.

Amino-acid alignment of the four candidate genes between the rice genomes of IR64, Azucena and Nipponbare varieties was realized under Clustal Omega platform (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Dash signficates a missing amino-acid, "*" indicates that the amino-acid is conserved, "." indicates that the amino-acids differ and belong to a group with weak similarity, and ":" indicates that the amino-acids differ but belong to a group with strong biochemical similarity. The criterion for distinguishing strong from weak similarities is as follows: strong similarity corresponds to a Gonnet PAM250 MATRIX score between amino acids of greater than 0.5, while weak similarity corresponds to a score of 0.5 or less.

Strains or Plasmids	Relevant characteristics	Antibiotic resistance	Reference/Source
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>			
PXO99 ^A	Philippines strain		Adam Bogdanove Laboratory
MAI1	Malian strain	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3	Burkinabe strain	Rifampicin	Gonzalez et al., 2007
BAI3 Δ <i>talD</i> (EV)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3, transformed with pSKX1 empty vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	(Lachaux et al. submitted)
BAI3 Δ <i>talD</i> (<i>ptalD</i>)	<i>talD</i> knock-out mutant of BAI3 complemented with <i>talD</i> gene expressed on pSKX1 vector	Rifampicin, Kanamycin, Gentamicin	(Lachaux et al. submitted)
BAI192	Burkinabe strain		Diallo et al., in prep
MAI73	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI95	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI68	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI145	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI106	Malian strain		Doucouré et al., 2018
MAI99	Malian strain		Doucouré et al., 2018
Plasmids			
pSKX1			Streubel et al., 2013

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

Strains highlighted in bold were only inoculated on the rice varieties IR64 and Azucena.

	Chromosome	ID_IR64	Name/function
1	7	<i>OsIR64_07g008410</i>	SurE domain-containing protein
2	7	<i>OsIR64_07g008420</i>	Conserved hypothetical protein
3	7	<i>OsIR64_07g008430</i>	expressed protein
4	7	<i>OsIR64_07g008440</i>	Zeta-carotene desaturase
5	7	<i>OsIR64_07g008450</i>	cytochrome b-c1 complex subunit 7 Putative expressed
6	7	<i>OsIR64_07g008460</i>	WD_REPEATS_REGION domain-containing protein
7	7	<i>OsIR64_07g008470</i>	Os07g0205500 protein
8	7	<i>OsIR64_07g008480</i>	expressed protein
9	7	<i>OsIR64_07g008490</i>	Os07g0205700 protein
10	7	<i>OsIR64_07g008500</i>	Cyclin-like protein
11	7	<i>OsIR64_07g008510</i>	expressed protein
12	7	<i>OsIR64_07g008520</i>	Putative 13 kDa prolamin C
13	7	<i>OsIR64_07g008530</i>	Os07g0206600 protein
14	7	<i>OsIR64_07g008540</i>	Methyltransferase
15	7	<i>OsIR64_07g008550</i>	Os07g0206800 protein
16	7	<i>OsIR64_07g008560</i>	expressed protein
17	7	<i>OsIR64_07g008570</i>	Protein kinase domain-containing protein
18	7	<i>OsIR64_07g008580</i>	Conserved hypothetical protein
19	7	<i>OsIR64_07g008590</i>	Conserved hypothetical

	Chromosome	ID_Azucena	Name/function
1	7	<i>OsAzucena07g009950</i>	SurE domain-containing protein
2	7	<i>OsAzucena07g009960</i>	Putative transposable element
3	7	<i>OsAzucena07g009970</i>	Hypothetical protein
4	7	<i>OsAzucena07g009980</i>	Zeta-carotene desaturase
5	7	<i>OsAzucena07g009990</i>	expressed protein
6	7	<i>OsAzucena07g010000</i>	Putative Cytochrome b-c1 complex subunit 7
7	7	<i>OsAzucena07g010010</i>	expressed protein
8	7	<i>OsAzucena07g010020</i>	cDNA clone:J013072E21 full insert sequence
9	7	<i>OsAzucena07g010030</i>	Os07g0205500 protein
10	7	<i>OsAzucena07g010040</i>	expressed protein
11	7	<i>OsAzucena07g010050</i>	Os07g0205700 protein
12	7	<i>OsAzucena07g010060</i>	NA
13	7	<i>OsAzucena07g010070</i>	Cyclin-like protein
14	7	<i>OsAzucena07g010080</i>	expressed protein
15	7	<i>OsAzucena07g010090</i>	13 kDa prolamin C
16	7	<i>OsAzucena07g010100</i>	13 kDa prolamin C
17	7	<i>OsAzucena07g010110</i>	Os07g0206600 protein
18	7	<i>OsAzucena07g010120</i>	Methyltransferase
19	7	<i>OsAzucena07g010130</i>	Os07g0206800 protein

			protein
20	7	<i>OsIR64_07g008600</i>	S5 DRBM domain-containing protein
21	7	<i>OsIR64_07g008610</i>	Putative Polygalacturonase
22	7	<i>OsIR64_07g008620</i>	40S ribosomal protein S15a-1
23	7	<i>OsIR64_07g008630</i>	Putative Polygalacturonase
24	7	<i>OsIR64_07g008640</i>	Cellulose synthase
25	7	<i>OsIR64_07g008650</i>	Remorin_C domain-containing protein
26	7	<i>OsIR64_07g008660</i>	expressed protein
27	7	<i>OsIR64_07g008670</i>	Putative Myosin-like protein
28	7	<i>OsIR64_07g008680</i>	MFS domain-containing protein
29	7	<i>OsIR64_07g008690</i>	Dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycosyltransferase 48 kDa subunit
30	7	<i>OsIR64_07g008700</i>	Os07g0209100 protein
31	7	<i>OsIR64_07g008710</i>	Conserved hypothetical protein
32	7	<i>OsIR64_07g008720</i>	Conserved hypothetical protein
33	7	<i>OsIR64_07g008730</i>	expressed protein
34	7	<i>OsIR64_07g008740</i>	Putative helicase conserved C-terminal domain containing protein expressed

20	7	<i>OsAzucena07g010140</i>	expressed protein
21	7	<i>OsAzucena07g010150</i>	Os07g0207100 protein (Fragment)
22	7	<i>OsAzucena07g010160</i>	Conserved hypothetical protein
23	7	<i>OsAzucena07g010170</i>	NA
24	7	<i>OsAzucena07g010180</i>	Conserved hypothetical protein
25	7	<i>OsAzucena07g010190</i>	S5 DRBM domain-containing protein
26	7	<i>OsAzucena07g010200</i>	expressed protein
27	7	<i>OsAzucena07g010210</i>	Polygalacturonase
28	7	<i>OsAzucena07g010220</i>	CTD phosphatase-like protein
29	7	<i>OsAzucena07g010230</i>	Polygalacturonase
30	7	<i>OsAzucena07g010240</i>	Os07g0207900 protein
31	7	<i>OsAzucena07g010250</i>	40S ribosomal protein S15a-1
32	7	<i>OsAzucena07g010260</i>	Os07g0208100 protein (Fragment)
33	7	<i>OsAzucena07g010270</i>	Os07g0208200 protein
34	7	<i>OsAzucena07g010280</i>	NAM-associated domain-containing protein

35	7	<i>OsIR64_07g008750</i>	Putative Fe(2+) transport protein 1
36	7	<i>OsIR64_07g008760</i>	C2H2-type domain-containing protein
37	7	<i>OsIR64_07g008770</i>	expressed protein
38	7	<i>OsIR64_07g008780</i>	BZIP domain-containing protein
39	7	<i>OsIR64_07g008790</i>	Exocyst subunit Exo70 family protein
1	11	<i>OsIR64_11g032370</i>	Putative Disease resistance

35	7	<i>OsAzucena07g010290</i>	Cellulose synthase
36	7	<i>OsAzucena07g010300</i>	DNA binding protein-like
37	7	<i>OsAzucena07g010310</i>	NA
38	7	<i>OsAzucena07g010320</i>	expressed protein
39	7	<i>OsAzucena07g010330</i>	expressed protein
40	7	<i>OsAzucena07g010340</i>	Myosin-like protein
41	7	<i>OsAzucena07g010350</i>	MFS domain-containing protein
42	7	<i>OsAzucena07g010360</i>	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit
43	7	<i>OsAzucena07g010370</i>	Os07g0209100 protein
44	7	<i>OsAzucena07g010380</i>	NA
45	7	<i>OsAzucena07g010390</i>	Putative expressed protein
46	7	<i>OsAzucena07g010400</i>	NA
47	7	<i>OsAzucena07g010410</i>	NA
48	7	<i>OsAzucena07g010420</i>	expressed protein
49	7	<i>OsAzucena07g010430</i>	NA
50	7	<i>OsAzucena07g010440</i>	ZOS7-03 - C2H2 zinc finger protein expressed
51	7	<i>OsAzucena07g010450</i>	expressed protein
52	7	<i>OsAzucena07g010460</i>	Os07g0209800 protein
1	11	<i>OsAzucena11g043300</i>	Putative Disease resistance

			protein RGA5
2	11	<i>OsIR64_11g032380</i>	NB-ARC domain containing protein
3	11	<i>OsIR64_11g032390</i>	Putative VWFA domain-containing protein
4	11	<i>OsIR64_11g032400</i>	Disease resistance protein Pik-1
5	11	<i>OsIR64_11g032410</i>	Disease resistance protein Piks-2
6	11	<i>OsIR64_11g032420</i>	tetratricopeptide repeat domain containing protein expressed
7	11	<i>OsIR64_11g032430</i>	Putative DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 46
8	11	<i>OsIR64_11g032440</i>	Expressed protein
9	11	<i>OsIR64_11g032450</i>	NA
10	11	<i>OsIR64_11g032460</i>	rfam_acc=RF00885
11	11	<i>OsIR64_11g032470</i>	Protein kinase
12	11	<i>OsIR64_11g032480</i>	GUB_WAK_bind domain-containing protein
13	11	<i>OsIR64_11g032490</i>	Protein kinase domain-containing protein
14	11	<i>OsIR64_11g032500</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
15	11	<i>OsIR64_11g032510</i>	Protein kinase domain-containing protein

			protein RGA5
2	11	<i>OsAzucena11g043310</i>	NA
3	11	<i>OsAzucena11g043320</i>	NB-ARC domain-containing protein
4	11	<i>OsAzucena11g043330</i>	expressed protein
5	11	<i>OsAzucena11g043340</i>	rfam_acc=RF00885
6	11	<i>OsAzucena11g043350</i>	Transposon protein Putative CACTAEn/Spm sub-class
7	11	<i>OsAzucena11g043360</i>	NA
8	11	<i>OsAzucena11g043370</i>	NA
9	11	<i>OsAzucena11g043380</i>	NA
10	11	<i>OsAzucena11g043390</i>	Disease resistance protein PIK5-NP
11	11	<i>OsAzucena11g043400</i>	Disease resistance protein PIK5-NP
12	11	<i>OsAzucena11g043410</i>	Conserved hypothetical protein
13	11	<i>OsAzucena11g043420</i>	tetratricopeptide repeat domain containing protein expressed
14	11	<i>OsAzucena11g043430</i>	Os11g0689400 protein
15	11	<i>OsAzucena11g043440</i>	Expressed protein

16	11	<i>OsIR64_11g032520</i>	Protein kinase domain-containing protein
17	11	<i>OsIR64_11g032530</i>	Conserved hypothetical protein
18	11	<i>OsIR64_11g032540</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 5
19	11	<i>OsIR64_11g032550</i>	Conserved hypothetical protein
20	11	<i>OsIR64_11g032560</i>	Major disease resistance protein Xa4
21	11	<i>OsIR64_11g032570</i>	Protein kinase domain-containing protein
22	11	<i>OsIR64_11g032580</i>	rfam_acc=RF00886
23	11	<i>OsIR64_11g032590</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
24	11	<i>OsIR64_11g032600</i>	expressed protein
25	11	<i>OsIR64_11g032610</i>	Protein kinase domain-containing protein
26	11	<i>OsIR64_11g032620</i>	Protein kinase domain-containing protein
27	11	<i>OsIR64_11g032630</i>	Receptor kinase TRKc
28	11	<i>OsIR64_11g032640</i>	Protein kinase domain-containing protein
29	11	<i>OsIR64_11g032650</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570

16	11	<i>OsAzucena11g043450</i>	NA
17	11	<i>OsAzucena11g043460</i>	expressed protein
18	11	<i>OsAzucena11g043470</i>	rfam_acc=RF01902
19	11	<i>OsAzucena11g043480</i>	rfam_acc=RF01902
20	11	<i>OsAzucena11g043490</i>	Protein kinase domain-containing protein
21	11	<i>OsAzucena11g043500</i>	Protein kinase domain-containing protein
22	11	<i>OsAzucena11g043510</i>	NA
23	11	<i>OsAzucena11g043520</i>	Putative expressed protein
24	11	<i>OsAzucena11g043530</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
25	11	<i>OsAzucena11g043540</i>	Putative wall-associated receptor kinase-like 16
26	11	<i>OsAzucena11g043550</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
27	11	<i>OsAzucena11g043560</i>	Protein kinase domain-containing protein
28	11	<i>OsAzucena11g043570</i>	Transposon protein Putative CACTAEn/Spm sub-class
29	11	<i>OsAzucena11g043580</i>	NA

30	11	<i>OsIR64_11g032660</i>	RRM_8 domain-containing protein
31	11	<i>OsIR64_11g032670</i>	Putative Receptor kinase-like protein Xa21
32	11	<i>OsIR64_11g032680</i>	Protein kinase domain-containing protein
33	11	<i>OsIR64_11g032690</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase EFR
34	11	<i>OsIR64_11g032700</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
35	11	<i>OsIR64_11g032710</i>	Receptor kinase TRKc
36	11	<i>OsIR64_11g032720</i>	Expressed protein
37	11	<i>OsIR64_11g032730</i>	ATP-citrate synthase alpha chain protein 2
38	11	<i>OsIR64_11g032740</i>	Fn3_like domain-containing protein
39	11	<i>OsIR64_11g032750</i>	Putative Disease resistance protein RGA5
40	11	<i>OsIR64_11g032760</i>	Conserved hypothetical protein
41	11	<i>OsIR64_11g032770</i>	Conserved hypothetical protein
42	11	<i>OsIR64_11g032780</i>	stripe rust resistance protein Yr10 Putative expressed
43	11	<i>OsIR64_11g032790</i>	expressed protein

30	11	<i>OsAzucena11g043590</i>	rfam_acc=RF00885
31	11	<i>OsAzucena11g043600</i>	NA
32	11	<i>OsAzucena11g043610</i>	Putative Probably inactive leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At3g28040
33	11	<i>OsAzucena11g043620</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
34	11	<i>OsAzucena11g043630</i>	Putative LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570
35	11	<i>OsAzucena11g043640</i>	Os11g0695800 protein (Fragment)
36	11	<i>OsAzucena11g043650</i>	Transposable element protein Putative MuDR
37	11	<i>OsAzucena11g043660</i>	Expressed protein
38	11	<i>OsAzucena11g043670</i>	NA
39	11	<i>OsAzucena11g043680</i>	NA
40	11	<i>OsAzucena11g043690</i>	ATP-citrate synthase alpha chain protein 2
41	11	<i>OsAzucena11g043700</i>	Fn3_like domain-containing protein
42	11	<i>OsAzucena11g043710</i>	cDNA clone:J033001C17%2C full insert sequence
43	11	<i>OsAzucena11g043720</i>	NA

44	11	<i>OsIR64_11g032800</i>	Protein kinase
45	11	<i>OsIR64_11g032810</i>	Putative Wall-associated receptor kinase 2
46	11	<i>OsIR64_11g032820</i>	Myb-related protein MYBAS1
47	11	<i>OsIR64_11g032830</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
48	11	<i>OsIR64_11g032840</i>	Conserved hypothetical protein
49	11	<i>OsIR64_11g032850</i>	Putative H0103C06.4 protein
50	11	<i>OsIR64_11g032860</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
51	11	<i>OsIR64_11g032870</i>	Xylanase inhibitor protein 2
52	11	<i>OsIR64_11g032880</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
53	11	<i>OsIR64_11g032890</i>	Glyco_hydro_18 domain-containing protein
54	11	<i>OsIR64_11g032900</i>	Putative Xylanase inhibitor protein 1
55	11	<i>OsIR64_11g032910</i>	Putative Xylanase inhibitor protein 1
56	11	<i>OsIR64_11g032920</i>	Putative Zinc finger protein ZAT8
57	11	<i>OsIR64_11g032930</i>	PAP_central domain-containing protein
58	11	<i>OsIR64_11g032940</i>	Putative DDE Tnp4 domain-containing protein
59	11	<i>OsIR64_11g032950</i>	Putative expressed protein

44	11	<i>OsAzucena11g043730</i>	Laccase-21
45	11	<i>OsAzucena11g043740</i>	NA
46	11	<i>OsAzucena11g043750</i>	OSJNBa0053K19.15 protein
47	11	<i>OsAzucena11g043760</i>	Rep_fac-A_C domain-containing protein
48	11	<i>OsAzucena11g043770</i>	ATP-dependent DNA helicase
49	11	<i>OsAzucena11g043780</i>	expressed protein
50	11	<i>OsAzucena11g043790</i>	zinc knuckle family protein expressed
51	11	<i>OsAzucena11g043800</i>	Putative Ulp1 protease-like protein
52	11	<i>OsAzucena11g043810</i>	NA
53	11	<i>OsAzucena11g043820</i>	NA
54	11	<i>OsAzucena11g043830</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
55	11	<i>OsAzucena11g043840</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
56	11	<i>OsAzucena11g043850</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
57	11	<i>OsAzucena11g043860</i>	Putative ULP_PROTEASE domain-containing protein
58	11	<i>OsAzucena11g043870</i>	NA
59	11	<i>OsAzucena11g043880</i>	Conserved hypothetical

60	11	<i>OsIR64_11g032960</i>	Putative Osmotin-like protein
61	11	<i>OsIR64_11g032970</i>	RING-type domain-containing protein
62	11	<i>OsIR64_11g032980</i>	RING-type domain-containing protein
63	11	<i>OsIR64_11g032990</i>	Vacuolar protein sorting-associated protein 2 homolog 1
64	11	<i>OsIR64_11g033000</i>	Conserved hypothetical protein
65	11	<i>OsIR64_11g033010</i>	Expressed protein
66	11	<i>OsIR64_11g033020</i>	Neprosin_AP domain-containing protein
67	11	<i>OsIR64_11g033030</i>	Heat shock cognate 70 kDa
68	11	<i>OsIR64_11g033040</i>	NA
69	11	<i>OsIR64_11g033050</i>	rfam_acc=RF00133
70	11	<i>OsIR64_11g033060</i>	NA
71	11	<i>OsIR64_11g033070</i>	Heat shock cognate 70 kDa protein
72	11	<i>OsIR64_11g033080</i>	Os11g0704000 protein
73	11	<i>OsIR64_11g033090</i>	NB-ARC domain containing protein
74	11	<i>OsIR64_11g033100</i>	expressed protein
75	11	<i>OsIR64_11g033110</i>	OBG-type G domain-containing protein

			protein
60	11	<i>OsAzucena11g043890</i>	NA
61	11	<i>OsAzucena11g043900</i>	expressed protein
62	11	<i>OsAzucena11g043910</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
63	11	<i>OsAzucena11g043920</i>	Transposon protein Putative CACTA En/Spm sub-class
64	11	<i>OsAzucena11g043930</i>	Retrotransposon protein Putative Ty3-gypsy subclass
65	11	<i>OsAzucena11g043940</i>	Putative Disease resistance protein PIK6-NP
66	11	<i>OsAzucena11g043950</i>	Putative Disease resistance protein PIK6-NP
67	11	<i>OsAzucena11g043960</i>	Retrotransposon protein Putative unclassified
68	11	<i>OsAzucena11g043970</i>	NA
69	11	<i>OsAzucena11g043980</i>	Putative OSJNBa0043L09.11 protein
70	11	<i>OsAzucena11g043990</i>	rfam_acc=RF00885
71	11	<i>OsAzucena11g044000</i>	rfam_acc=RF00885
72	11	<i>OsAzucena11g044010</i>	expressed protein
73	11	<i>OsAzucena11g044020</i>	Myb-related protein MYBAS1
74	11	<i>OsAzucena11g044030</i>	expressed protein
75	11	<i>OsAzucena11g044040</i>	Protein kinase domain-containing protein

76	11	<i>OsIR64_11g033120</i>	anti_codon=CTT
77	11	<i>OsIR64_11g033130</i>	Putative Metallothionein-like protein 1A
78	11	<i>OsIR64_11g033140</i>	X8 domain-containing protein
79	11	<i>OsIR64_11g033150</i>	RRM domain-containing protein
80	11	<i>OsIR64_11g033160</i>	RHOMBOID-like protein
81	11	<i>OsIR64_11g033170</i>	expressed protein
82	11	<i>OsIR64_11g033180</i>	GRAS domain-containing protein
83	11	<i>OsIR64_11g033190</i>	Putative Os11g0631825 protein
84	11	<i>OsIR64_11g033200</i>	Conserved hypothetical protein
85	11	<i>OsIR64_11g033210</i>	Conserved hypothetical protein
86	11	<i>OsIR64_11g033220</i>	Conserved hypothetical protein
87	11	<i>OsIR64_11g033230</i>	Conserved hypothetical protein
88	11	<i>OsIR64_11g033240</i>	Conserved hypothetical protein
89	11	<i>OsIR64_11g033250</i>	Expressed protein
90	11	<i>OsIR64_11g033260</i>	Expressed protein
91	11	<i>OsIR64_11g033270</i>	Thaumatococcus-like protein
92	11	<i>OsIR64_11g033280</i>	CYCLIN domain-containing protein

76	11	<i>OsAzucena11g044050</i>	NA
77	11	<i>OsAzucena11g044060</i>	Chitinase
78	11	<i>OsAzucena11g044070</i>	Glycosyl hydrolases family 18
79	11	<i>OsAzucena11g044080</i>	Xylanase inhibitor protein 2
80	11	<i>OsAzucena11g044090</i>	Chitinase
81	11	<i>OsAzucena11g044100</i>	Chitinase
82	11	<i>OsAzucena11g044110</i>	Glycosyl hydrolases family 18
83	11	<i>OsAzucena11g044120</i>	Glycosyl hydrolases family 18
84	11	<i>OsAzucena11g044130</i>	expressed protein
85	11	<i>OsAzucena11g044140</i>	Xylanase inhibitor protein 1
86	11	<i>OsAzucena11g044150</i>	Chitinase III C10701-rice
87	11	<i>OsAzucena11g044160</i>	Chitinase III C10701-rice
88	11	<i>OsAzucena11g044170</i>	Chitinase III C10701-rice
89	11	<i>OsAzucena11g044180</i>	ZOS11-09 - C2H2 zinc finger protein expressed
90	11	<i>OsAzucena11g044190</i>	C2H2 type zinc finger transcription factor ZFP17
91	11	<i>OsAzucena11g044200</i>	Expressed protein
92	11	<i>OsAzucena11g044210</i>	DDE Tnp4 domain-containing protein

93	11	<i>OsIR64_11g033290</i>	Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase chloroplastic
94	11	<i>OsIR64_11g033300</i>	Os11g0707050 protein
95	11	<i>OsIR64_11g033310</i>	Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase chloroplastic
96	11	<i>OsIR64_11g033320</i>	expressed protein
97	11	<i>OsIR64_11g033330</i>	Chain A Nmr Structure Of The Single Qalggh Zinc Finger Domain From Arabidopsis Thaliana Superman Protein
98	11	<i>OsIR64_11g033340</i>	Putative expressed protein
99	11	<i>OsIR64_11g033350</i>	Very-long-chain aldehyde decarbonylase GL1-11
100	11	<i>OsIR64_11g033360</i>	Os11g0707700 protein
101	11	<i>OsIR64_11g033370</i>	Mitochondrial uncoupling protein 1
102	11	<i>OsIR64_11g033380</i>	expressed protein
103	11	<i>OsIR64_11g033390</i>	Laccase-22
104	11	<i>OsIR64_11g033400</i>	Putative expressed protein
105	11	<i>OsIR64_11g033410</i>	Conserved hypothetical protein
106	11	<i>OsIR64_11g033420</i>	GDSL esterase/lipase

93	11	<i>OsAzucena11g044220</i>	OSJNBa0023J03.3 protein
94	11	<i>OsAzucena11g044230</i>	F-box domain-containing protein
95	11	<i>OsAzucena11g044240</i>	Os11g0703000 protein
96	11	<i>OsAzucena11g044250</i>	thaumatin family domain containing protein expressed
97	11	<i>OsAzucena11g044260</i>	RING-type domain-containing protein
98	11	<i>OsAzucena11g044270</i>	RING-type domain-containing protein
99	11	<i>OsAzucena11g044280</i>	Vacuolar protein sorting-associated protein 2 homolog 1
100	11	<i>OsAzucena11g044290</i>	Expressed protein
101	11	<i>OsAzucena11g044300</i>	Neprosin_AP domain-containing protein
102	11	<i>OsAzucena11g044310</i>	expressed protein
103	11	<i>OsAzucena11g044320</i>	Heat shock cognate 70 kDa
104	11	<i>OsAzucena11g044330</i>	NA
105	11	<i>OsAzucena11g044340</i>	rfam_acc=RF00133
106	11	<i>OsAzucena11g044350</i>	NA

Chapitre 3 : Utilisation d'une approche de RNA-seq pour identifier des gènes exécuteurs candidats contre les souches Africaines de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Contexte

De précédentes études menées par l'équipe sur les souches Africaines de *Xoo* (Gonzalez et al. 2007; Djedatin et al. 2011) ont montré que ces dernières diffèrent des souches Asiatiques par de nombreux traits, et notamment qu'elles induisent des résistances qui leur sont spécifiques. A ce jour, seulement quatre gènes de résistance de type exécuteur (*E*) induits par *Xoo* ont été identifiés chez le riz. Il s'agit de *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*. Les TALE correspondants AvrXa7, AvrXa10, AvrXa23 et AvrXa27 n'ont jamais été détectés chez les souches Africaines.

Dans les chapitres précédents deux TALE d'avirulence, dont TalD, ont été identifiés chez les souches de *Xoo* MAI1 et BAI3 pour promouvoir la résistance sur des variétés de riz, dont la variété IR64 qui est séquencée et pour laquelle une population de lignées recombinantes était disponible. Les analyses de cartographie menées dans le chapitre 2 ont permis de mettre en avant cinq QTL impliqués dans la résistance à ces deux souches. Par ailleurs, un lien entre le TALE d'avirulence TalD et le QTL identifié sur le chromosome 11 a pu être établi. Fort des résultats acquis par une approche de génétique et, considérant la capacité des TALE à induire leurs gènes cibles, nous nous sommes ensuite tournés vers une approche de RNAseq. Cette approche a pour but d'identifier les gènes différentiellement régulés en condition de résistance chez IR64 et de pouvoir ainsi croiser ces résultats avec ceux obtenus dans le chapitre 2 pour identifier de nouveaux gènes de résistance aux souches Africaines de *Xoo* chez IR64.

Matériels & Méthodes

Pour tester si la résistance médiée par TalD chez IR64 provenait de l'induction d'un gène exécuteur, nous avons dans un premier temps testé si le domaine d'activation de la transcription de ce TALE était nécessaire à son activité d'avirulence en le supprimant.

Basé sur la capacité des effecteurs TAL à se fixer au promoteur de leur gènes cibles et à les sur-exprimer, nous avons entrepris une analyse de transcriptomique sur la variété résistante IR64 et la variété sensible Nipponbare, afin d'identifier de potentiels gènes exécuteurs répondant à l'inoculation de MAI1 et BAI3 sur IR64. En plus des deux souches sauvages, la souche mutante BAI3 Δ talD portant soit un vecteur vide (EV), soit complétementée avec *talD* (*ptalD*), ont été utilisées pour identifier spécifiquement les gènes exécuteurs candidats induits par cet effecteur.

Résultats & Conclusions

Dans cette étude, les résultats ont démontré que le domaine d'activation de TalD, facteur d'avirulence conservé chez les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, est nécessaire pour promouvoir la résistance chez IR64. Les résultats d'expressions différentielles combinés aux analyses de prédiction de cibles *in silico* pour TalD ont permis l'identification de plusieurs gènes exécuteurs candidats.

Perspectives

Afin de confirmer le rôle des gènes candidats dans la résistance de IR64 face aux souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, des TALE artificiels seront générés pour cibler le promoteur de ces derniers. Ils seront transformés dans une souche de *Xoo* virulente sur IR64 afin d'observer si l'induction d'un des gènes candidats permet d'observer un gain d'avirulence. Suite à cela, si certains des gènes candidats sont validés, la génération de plantes éditées dans l'EBE ou dans la séquence codante du gène et la transformation de plantes sensibles avec le gène candidat et son promoteur, seront entreprises.

Implication personnelle

L'inoculation des souches bactériennes, la lecture des longueurs de lésions, l'extraction des ARN, ont été réalisés par mes soins. Tout au long de ma thèse, en plus d'avoir suivie de nombreuses formations en bioinformatique, j'ai été formée par Julie Orjuela aux analyses de RNAseq. Alvaro L. Perez-Quintero m'a par la suite assistée dans les analyses des données brutes de séquençage des échantillons de cette étude; le traitement des données ressortant de ces analyses a ensuite été pris en charge par moi-même.

RNA-seq approach used to uncover potential candidate executor genes against African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains

Marlène Lachaux¹, Alvaro L. Perez-Quintero¹, Julie Orjuela^{1,2}, Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²DIADE DIversity-Adaptation-DEvelopment of plants, Univ. Montpellier, IRD, CIRAD, CNRS, Montpellier, France

Abstract

Bacterial leaf blight (BLB) of rice, caused by the gram-negative bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), is a devastating disease responsible of considerable losses and yield reductions in Asia and Africa. Through its type-III secretion system *Xoo* injects Transcription Activator-Like Effectors (TALEs) into the host cell, hence modulating the expression of plant genes to promote bacterial colonization. Few relevant target genes of TALEs have been identified so far, but some of them have been reported as major virulence effectors by targeting susceptibility (*S*) genes whose overexpression contributes to the development of the disease. On another hand, plants have evolved to "trick" TALEs into driving the expression of so-called executor (*E*) genes leading to a resistance reaction that stops disease development. Although in rice, four *E* genes induced by *Xoo* TALEs have been identified and cloned, their cognate TALEs have never been detected in African *Xoo* strains. So far, we have identified four TALE candidates conferring avirulence to the *Xoo* strain MAI1 on different rice varieties, and confirmed the avirulence activity of two. In this study, results demonstrated that TalD, an avirulence factor common to the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, relies on its activation domain to promote resistance in IR64. With the aim of identifying potential *E* genes underlying IR64 resistance to MAI1 and BAI3, we used an RNAseq approach combined to *in silico* EBE prediction, allowing for the identification of several candidate *E* genes.

Introduction

To date, there are approximately 400 species of plants that serve as host for the plant-pathogenic bacteria *Xanthomonas*, including a wide variety of monocotyledons and dicotyledons, of which crops of important agronomic interest such as tomato, rice, cotton, wheat, cassava, or citrus (Jacques et al. 2016). The gram-negative bacteria *Xanthomonas* secretes via its type-III secretion system (T3SS) a cocktail of effectors into the host cell, which can be distinguished in two families, the TAL (Transcription Activator-Like) and the non-TAL effectors. In different pathosystems TAL effectors (TALEs) play an important role in pathogenicity. TALEs are characterized by a nuclear localization signal (NLS) allowing them to enter the nucleus, a central domain composed of tandem repeats enabling them to bind to DNA in a specific manner, and an acidic activation domain (AD) allowing the recruitment of the transcriptional machinery. The repeat region is composed of sequences of 33-34 nearly-identical amino acids, of which the residues in position 12 and 13 are hypervariable and responsible for the DNA stabilization and interaction, they are called RVDs (Repeat Variable Di-residues). TALEs bind to a DNA sequence called EBE for "Effector Binding Element", located in the promoter of the target genes. In 2009, two teams (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) deciphered simultaneously the code governing the interaction between TALE and DNA, demonstrating that each RVD can fix a specific nucleotide and consequently allowing to predict target EBEs from TALE sequences. TALEs were known to promote disease through the induction of susceptibility (*S*) genes, which are essential to the proliferation of bacteria into the plant (Hutin et al. 2015). Among the *S* genes targeted by TALEs, the *SWEET* (*Sugar Will Eventually be Exported Transporters*) gene family, encoding sugar uniporters, is the most studied (Streubel et al. 2013; Chen 2014; Cox et al. 2017). Even if TALEs primary role seems to be allowing disease development, they were first identified at promoting resistance mechanisms (Bonas et al. 1989; Hopkins et al. 1992). To date, three types of resistance mediated by TALEs have been describe. The first one, is called "resistance by loss of susceptibility" and results of a polymorphism in the TALE's EBE of a susceptibility gene compromising its induction and consequently disease development. Otherwise, TALEs can be recognized as a "classical" type-III effector (T3E) through a nucleotide-binding domain leucine rich repeat containing receptor (NLR) protein thus triggering a resistance cascade and finally an hypersensitive response (HR). To date, two NLRs from the tomato plant and rice, respectively named Bs4 and Xa1, are known to induce TALE-dependent resistance (Yoshimura et al. 1998; Schornack et al. 2004). These NLR recognize TALE independently of their RVD sequence and activation domain (AD). Bs4 is constitutively induced and perceives AvrBs4 in the cytoplasm. Xa1 recognizes most of the *Xoo* TALEs and acts in the nucleus (Ji et al. 2016). Finally, some TALEs can bind to the promoter of a so-called executor (*E*) gene which blocks disease development. In the last case, with

an EBE placed upstream of this type of gene, the plant ensures the attachment of a TALE to the gene promoter hence driving the initiation of a resistance pathway (Zhang et al. 2015).

To date six *E* genes, along with their associated avirulence TALEs, have been cloned, namely *Bs3* and *Bs4C-R* in pepper (Römer et al. 2007; Strauß et al. 2012) and *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* and *Xa27* in rice (Gu et al. 2005, 2008; Wang et al. 2015; Chen et al. 2021; Luo et al. 2021). Executor genes code for small proteins of unknown function and do not resemble the classical resistance proteins NLRs. The first executor gene to be cloned in rice was the *Xa27* gene (Gu et al. 2004), isolated by positional cloning. *Xoo* strains carrying the *tal* gene *avrXa27* are able to induce *Xa27* and consequently the production of a small protein secreted in the apoplast that is toxic to the cell. Overexpression of this protein results in thickening of the vascular bundle elements, as well as an HR that completely blocks the development of rice vascular bacterial disease (Wu et al. 2008). Regarding the *R* gene *Bs4C* from pepper, which is induced by the AvrBs4 TALE of *X. euvesicatoria*, rather than using laborious approach such as positional cloning, Strauß et al. (2012) succeed to isolate *Bs4C* by using Illumina-based transcriptome profiling combined with EBE predictions (Strauß et al. 2012). In 2021, this time through the combination of fine genetic mapping and transcriptomic approaches, Luo et al. (2021) managed to isolate the *R* gene *Xa7*, targeted by TALEs AvrXa7 and PthXo3 (Luo et al. 2021). The *E* gene *Xa7* was shown to confer highly durable resistance due to the fact that AvrXa7 plays a dual role, first by targeting this *E* gene thus initiating resistance pathways, and second by targeting the *S* gene *OsSWEET14* driving mechanisms leading to disease (Hopkins et al. 1992; Antony et al. 2010).

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*), the causal agent of the bacterial leaf blight (BLB) of rice, is considered as a threat in Asia and West Africa due to important yield losses, ranging to 10% up to 50% (Liu et al. 2014). African and Asian *Xoo* strains are genetically distant from each other and differ by many traits. On the one hand, they are known to promote specific resistance, Quantitative Trait Loci (QTLs) and genes, in another hand they display a different number of *tal* genes, with a reduced TALome for African *Xoo* strains with up to 9 *tal* genes versus up to 19 for Asian strains (Gonzalez et al. 2007; Salzberg et al. 2008).

In previous studies, several QTLs conferring resistance to the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 were evidenced in IR64 through the use of Recombinant Inbred Lines (RILs) from the cross between the elite *indica* rice variety IR64 and the *japonica* landrace Azucena (Djedatin et al. 2016; Lachaux et al. in prep). Two of them, identified on chromosome 7 (*qABB-7*) and 11 (*qABB-11*), have a large effect explaining 36% and 18% of the phenotypic variance observed upon the inoculation of MAI1 and BAI3, respectively (Lachaux et al. in prep). In addition, the resistance

QTL *qABB-11* identified in response to MAI1 and BAI3, was reported to be more specifically highlighted by TalD which is conserved between both strains. In this study, we first aimed at determining if the resistance in IR64 promoted by TalD is activation domain dependent. Our results show that the deletion of the activation domain of TalD impaired its avirulence activity on IR64. To go further on this lead, a transcriptome analysis was carried out with a strain mutated for the avirulent TALE in order to sort out differentially expressed genes in comparison to the wild type strain BAI3 and identify candidates that may act as *E* genes. Furthermore, transcriptional responses of susceptible and resistant rice varieties to the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3 was studied. We report here on the identification of several candidate genes responding to MAI1 and BAI3 and more specifically to TalD.

Results

The transcriptional activation domain of TalD is required to trigger resistance on IR64

In previous work we reported the avirulence activity of TalD on the rice variety IR64 (Lachaux et al. preprint). Herein to test whether the resistance promoted by TalD relies on the induction of an *E* gene, the acidic activation domain of this TALE was deleted (*ptalDΔAD*). The wild-type African *Xoo* strain BAI3, and the mutant strain BAI3Δ*talD* carrying either an empty vector (EV), TalD (*ptalD*) or its activation domain deleted (*ptalDΔAD*) derivatives, were inoculated on the resistant rice variety IR64 and the susceptible control landrace Azucena (Fig. 1). Leaf-clip inoculation of the three mutant strains produced WT-like symptoms on Azucena, indicating that virulence of these strains is not affected. As previously reported, the inoculation of the mutant strain BAI3Δ*talD* carrying an empty vector displayed on IR64 an increase in lesion lengths compared to the wild-type strain BAI3, while when a plasmid-borne copy of *talD* was expressed avirulence was fully restored. In contrast, the activation domain mutant *ptalDΔAD* did not allow to restore the avirulence phenotype of BAI3Δ*talD* on IR64 (Fig. 1). Western-blot analysis verified that TalD and TalDΔAD accumulate at comparable levels (Fig. S1). Overall, these results indicate that TalD relies on its acidic activation domain to promote resistance in IR64, which would likely rely on the induction of an *E* gene.

Assessment of IR64 and Nipponbare RNAseq libraries

Having identified in a previous study several QTLs of resistance to MAI1 and BAI3 including one specific of TalD on the chromosome 11 in IR64 (Chapter 2, Lachaux et al. in prep), and based on the assumption that at least TalD transcriptionally activates an *E* gene, we initiated a RNAsequencing-based transcriptome profiling to identify candidate *R* genes. The resistant rice variety IR64 and the susceptible variety Nipponbare, whose genomes are publicly available, were

leaf infiltrated with the wild-type African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, and the mutant strain BAI3 Δ *talD* carrying an empty vector or complemented with *talD*.

RNAseq libraries were generated from leaf tissues collected 24 hours post-inoculation. As a reference for infection status, the induction of the *S* gene *OsSWEET14* which is known to be over-expressed by the *Xoo* strains MAI1 and BAI3 (Streubel et al. 2013), was evaluated in our biological samples in order to assess their quality prior sequencing. Even though, no disease symptoms was observed on the leaves 24 hours post-infiltration, the up-regulation of *OsSWEET14* by the four African *Xoo* strains is detected in Nipponbare and IR64 (Fig. S2).

Each library comprised a minimum of 20 million paired-end reads with an average of 23.2 million reads, and with an average read length of 300 nucleotides. The genomes of Nipponbare and IR64, publicly available on the Rice Genome Hub platform (Droc et al. 2019), were used to map those reads using STAR (v020201) (Dobin et al. 2013). Overall, the libraries had around 93% of reads mapping to the genome and percentages were similar between Nipponbare and IR64. Next, HTseq-count (v0.6.0) (Anders et al. 2015) was used with the mapping results to count the number of reads assigned to each gene to report their expression values. Similar number of reads were mapped to genes in total in each library. Afterwards, according to a Principal Component Analysis (PCA), the Nipponbare libraries tended to group by treatments, while the IR64 libraries group according to biological replicate (Fig. 2). In order to compare the different treatments, differential expression of each gene was calculated using DESeq2 (Love et al. 2014) and EgdeR (Robinson et al. 2009). To facilitate comparisons across IR64 and Nipponbare genomes, reciprocal blast between the two genomes was performed to identified orthologs, identifying 30,990. Of these 53 and 59 ortholog pairs were identified as differentially expressed in response to BAI3 and MAI1, respectively, in both genomes IR64 and Nipponbare, when compared to a mock control.

The *S* gene *OsSWEET14*, previously used as a marker of infection to assess, prior sequencing, the RNA libraries quality, was afterwards searched in each RNAseq library to evaluate its induction pattern. *OsSWEET14* was found induced in each library except in the mock controls but, unexpectedly, had much lower normalized counts in IR64 libraries compared to Nipponbare libraries (Fig. 3). To ensure that this was not due to a faulty assembly or annotation of the IR64 genome, the reads of each IR64 libraries were also mapped on the Nipponbare genome. The IR64 libraries had similar percentage of reads mapping to the Nipponbare genome as previously observed on the IR64 genome and the level of expression of *OsSWEET14* was similar regardless of the genome used for mapping, meaning the transcriptomic results observed are not related to a genome

issue but probably to a biological or technical issue. It is possible that for some unknown reason, the IR64 samples did not capture enough cells or tissues responsive to the bacteria, resulting in a diluted transcriptome, which also explains the lack of grouping according to treatment in the PCA of the IR64 libraries. Another possibility is that the time point (24 hours) used was not appropriate to this experiment.

Concerning the *BAI3ΔtalD(ptaID)* strain, the transcriptome profile expected was the same as the wild-type strain *BAI3*, with a higher expression profile of the genes potentially induced by *TalD* (directly and indirectly), in IR64. Unfortunately, the RNAseq libraries of this strain displayed an expression profile similar as the mock condition in IR64 and Nipponbare. We assumed then another problem had occurred in the process of this experiment, so the *BAI3ΔtalD(ptaID)* strain libraries have been removed from the analyses.

Differential expression of genes in resistant and susceptible varieties upon *BAI3*, *MAI1* wild-type strains, and the *BAI3ΔtalD(EV)* mutant strain

Differential expression of genes was assessed using a threshold of Log_2FC (Fold Change) superior and inferior to 1 and -1 respectively, and an adjusted p.value ≤ 0.1 (calculated with either DESeq2 or EdgeR), moreover three comparisons were evaluated. First, the wild-type strains *MAI1* and *BAI3* were compared to the mock control condition, in IR64 and Nipponbare. In IR64, 57 genes were found to be differentially expressed by *MAI1*, including 45 genes up-regulated and 12 genes down-regulated. Regarding *BAI3*, 87 genes were detected differentially expressed, with 75 genes up-regulated and 12 genes down-regulated. On the other hand, 857 and 710 genes were respectively up- and down-regulated by *MAI1*, and 768 and 646 genes were up- and down-regulated by *BAI3*, in Nipponbare. Next, the differential gene expression induced by the wild-type strain *BAI3* compared with the mutant strain *BAI3ΔtalD(EV)* was evaluated. In the resistant variety IR64, 12 and 11 genes were found to be up and down-regulated, respectively, by the wild-type strain. While on Nipponbare, 155 and 206 genes were detected as up- and down-regulated by *BAI3*. The fact that there are more differentially induced genes in Nipponbare than in IR64, could be justified by the respectively weak vs. strong difference between treatments, as shown in the PCA (Fig. 2) .

Then, the intersection of the two comparisons in IR64, *BAI3* vs. mock and *BAI3* vs. *BAI3ΔtalD(EV)*, revealed seven and eight genes commonly up- and down-regulated. Furthermore, 37 and 4 genes were listed to be up- and down-regulated in IR64, by both strains *MAI1* and *BAI3* (Fig. 4). Among those 37 up-regulated genes, 4 were also identified as up-regulated by *BAI3* in

comparison to the mutant strain *BAI3ΔtalD*(EV) (Table 1; Fig. 4). These four genes represent great candidate *E* genes induced by TalD.

In Nipponbare, 122 and 163 genes were revealed to be up- and down-regulated by BAI3 when compared to the mock control and the mutant strain (Fig. 4). Moreover 591 and 477 genes were identified to be commonly up- and down-regulated by MAI1 and BAI3 by comparison with the mock control (Fig. 4). Finally, 94 up-regulated and 125 down-regulated genes were found to be commonly induced in Nipponbare by MAI1 and BAI3 when compared to the mutant strain and the mock control (Fig. 4). Those 94 up-regulated include the 4 candidate *E* genes previously identified in IR64 (Table 1).

Next, gene ontology (GO) was assessed for the comparisons of treatments MAI1 and BAI3 with the mock controls, in the resistant and susceptible conditions, using the GO enrichment tool on the Rice Genome Hub platform, with a $p\text{-value} \leq 0.05$ (Droc et al. 2019). LOC_ID from Nipponbare orthologs were used for GO enrichment of IR64 differentially expressed genes. As shown in the Fig. S3, in the susceptible condition (Nipponbare) several genes involved in the photosynthesis pathway are down-regulated by MAI1 and BAI3, which coincides with the infection process of *Xoo*. In addition, genes of the hydrogen peroxide (H_2O_2) metabolic and catabolic processes are up-regulated by BAI3, reflecting the perception of the pathogen (Fig. S3). In the resistant condition (IR64), genes involved in various biosynthetic processes, such as polysaccharide, carbohydrate or phenylpropanoid processes, are down-regulated by MAI1 and BAI3 (Fig. S4). No GO enrichment was found for up-regulated genes in IR64 by MAI1 and BAI3.

Prediction of candidate genes targeted by TalD

The top 1000 predicted target genes of TalD in each genome (IR64 and Nipponbare) were then highlighted through the Talvez program v.3.2 (Pérez-Quintero et al. 2013). Talvez scores ranged from 9.3 to 14.1 in IR64, and from 9.5 to 13.9 in Nipponbare. Of the 1000 potential candidate targets of TalD, 7 and 110 were present among the differentially expressed genes in IR64 and Nipponbare, respectively, pooling all conditions.

Next, we examined the four up-regulated genes in IR64, that were differentially expressed by BAI3 and MAI1 compared to the mock control, and in the condition BAI3 vs *BAI3ΔtalD*(EV) (Fig. 4). Out of these four genes two, *OsIR64_03g045980* and *OsIR64_07g032900*, coding for a "Squamosa promoter binding protein-like 6" (SPL6) and a "CBL-interacting protein kinase 3" (CIPK3) respectively, contained predicted EBE sequence for TalD in their promoter. According to Talvez their rank positions were 2 and 306, and their scores were 13.7 and 10.5, respectively. These two

genes had their Nipponbare orthologs, *LOC_Os03g61760* and *LOC_Os07g48760*, also differentially expressed and with the same EBE sequence predicted. Their respective rank positions and scores, were 3 and 421, and 13.5 and 10.3, based on Talvez (Table 1). The protein sequence of these two genes were then compared between orthologs. The protein sequence of CIPK3 was exactly the same between IR64 and Nipponbare, while the protein sequence of SPL6 has two inserted sequences, of 28 and 10 amino-acids, in the IR64 protein versus the Nipponbare one (Fig. S5).

Transcriptional response and TalD binding site predictions of genes located in the QTL intervals revealed by BAI3 and MAI1 in IR64

In previous study five resistance QTLs located in IR64 were revealed by the presence of the African *Xoo* strains MAI1 and BAI3, respectively on chromosomes 3 (*qABB-3a*), 4, 7 and 11, and on chromosomes 3 (*qABB-3b*) and 11. The QTL on chromosome 11, *qABB-11*, being shared by both strains, was the first analyzed for deregulated genes in response to MAI1 and BAI3. Unfortunately, no differentially expressed genes present in the IR64 RNAseq libraries was found in this QTL, whereas three genes (two expressed proteins and one conserved hypothetical protein) located in this QTL were identified to have an EBE for TalD (Table 2). Among these three genes only one, *OsIR64_11g033100*, has also an EBE for TalD in its ortholog (*LOC_Os11g47790*) promoter.

Regarding the second QTL revealed by BAI3, *qABB-3b*, only one gene differentially expressed, *OsIR64_03g006810*, and annotated as a "detoxification" protein, was identified at the QTL (+/- 1 Mbp out of the interval). The ortholog in Nipponbare, *LOC_Os03g08900*, was also identified as differentially expressed (Table 3) and encodes for a MATE transporter.

Concerning the three other QTLs conferring resistance to MAI1 in IR64, one gene was reported in each QTL on chromosomes 4 and 7 (+/- 1 Mbp out of the interval), and no gene was reported in the QTL on chromosome 3 (*qABB-3a*) (Table 3).

A closer look at each technical replicate

As the assessment of the libraries showed that the transcriptome of the IR64 libraries might be diluted, we decided to examine each technical replicate one by one, in order to identify more differentially expressed genes in the QTL *qABB-11*. Several genes located in *qABB-11* (+/- 1 Mbp out of the interval) were identified differentially expressed in at least one of the three technical replicates, when comparing the wild-type strain BAI3 and the mock conditions in IR64 (Table 4). Among these genes three, *OsIR64_11g033220*, *OsIR64_11g032900* and *OsIR64_11g033060*, coding for a "GRAS-domain containing protein", a "putative xylanase inhibitor protein 1" and a "non coding RNA" respectively, were identified in two of the three replicates. None of these three

genes is differentially expressed in Nipponbare variety comparing BAI3 and mock conditions. However, none of these genes have a predicted EBE for TalD in both genomes.

While no gene was found to fulfill all the expected criteria for an *E* gene: differential expression, overlap with QTL, and presence of an EBE, several genes fulfill one or more of these conditions and are likely to be involved in the resistance response of IR64 against MAI1 and/or BAI3. These candidate genes are summarized in the Table 5.

Discussion

In this study, we demonstrated that the avirulence factor TalD previously identified (Lachaux et al. preprint) relies on its activation domain to induce resistance in IR64, suggesting hence an *E* gene is involved. In 2012, Strauß et al. used transcriptome analysis to identify the *E* gene *Bs4C* from pepper. They were the first to use RNAseq analysis to sort out an *E* gene. They went from 16,220 differentially expressed genes in the RNAseq to 32 candidate genes and finally selected 1 whose corresponding reads were detectable only in the resistant parent but not in the susceptible one. Using an F₂ population allowed them to reveal the complete linkage of the candidate locus and the *Bs4C*-triggered HR. Next, the comparison of the allele sequences between resistant and susceptible variety showed that they differ in their predicted promoter and coding sequences, and further experiments demonstrated that the induction of the *Bs4C*-triggered HR relies on the promoter polymorphism (Strauß et al. 2012). Finally, they used the TALE code to predict the sequence in the promoter of *Bs4C* that would be bound by AvrBs4. To date, despite what the *Bs4C* case shows, finding an *E* gene has often been tricky, even when genomic and transcriptomic data exist, as in the identification of *Xa7*. This gene was identified by RNAseq, but previously it was fine-mapped and was difficult to identify for several years (Luo et al. 2021).

In this study we expected to identify candidate *E* genes that were differentially expressed in RNAseq data, contained a predicted TALE binding site and collocated with identified QTLs. No candidate gene that would have been sorted out by the combination of all three approaches was found which might be explained either by technical reasons related to biases and limitations of the data used, or to biological reasons related to the nature of the *R* gene. Concerning RNAseq, we identified potential problems with IR64 treatments, mainly that there was not a clear effect of the treatments in the transcriptome, maybe caused by biological or technical issues, which lead us to repeat the experiment in the future. Despite this potential inconvenient, as said there might also be biological reasons why the target would be not found. For example, the timing of the evaluation of the samples

(24 hours) could be inadequate to identify the effect of TalD on the transcriptome; hence it would be interesting to try different time points to see if other candidate genes are revealed.

The identification of susceptibility genes through the use of transcriptome analyses is ideal as they are known to be strongly overexpressed when plant is infected by pathogens. Contrary to NLR proteins whose resistance mechanisms and transcriptome change related to their induction are well studied (Cui et al. 2015), the function of *E* genes is not as well understood and we have almost no insight on the level of expression needed to mediate resistance. Moreover, we don't have enough insight into the functions of *E* genes in the absence of bacterial challenge. The question remains whether *E* genes are repressed when there is no bacteria, as *E* genes can be considered as toxic for the plant (Zhang et al. 2015), or whether there is a basal expression in non-infectious condition and up-regulation under pathogen infection. In this study, differential expression of genes was assessed using a threshold of Log₂FC superior to 1 and inferior to -1, with an adjusted p.value of maximum 0.1. These default parameters, are commonly used in transcriptome analyses to ensure that few false positives are retained. However, it can be supposed that if the induced gene is considered toxic to the plant, only a very small amount would be needed to cause an HR, resulting in a low level of expression of this gene. In that case the differential expression of the *E* gene might not be retained regarding the default parameters.

Since the results of this study suggest that TalD promotes resistance dependent on the induction of an *E* gene, predictions of TALE binding sites for TalD in IR64 and Nipponbare were assessed with the Talvez program (Pérez-Quintero et al. 2013). In previous studies, EBE for avirulence genes were predicted in the first 1000bp of the promoter sequence of *E* genes (Römer et al. 2009; Strauß et al. 2012; Wang et al. 2015), therefore in the course of this study only this region was screened for EBE prediction. Herein, very few candidates of the RNAseq analyses were potentially targeted by TalD. When *Xa23* was identified, the predicted EBE for *AvrXa23* using the TALE-NT program had a score twice as high (indicating lower likelihood of binding) as those previously predicted for the avirulence genes *AvrXa10*, *AvrXa27*, *AvrBs3*, and *AvrBs4*, indicating that the RVDs of *AvrXa23* poorly match to the EBE_{*AvrXa23*} sequence (Wang et al. 2015). Concerning the *AvrXa27-Xa27* pair, the score predicted for the EBE sequence ranked extremely low (indicating lower likelihood of binding) with the Talvez program (Pérez-Quintero et al. 2013). With respect to these results, we could wonder if the poor prediction scores for known TAL effector - *E* gene pairs do not reflect something biological ; there could be a selection on the bacterial side against a good match with an *E* promoter to avoid binding. Thus, by limiting the list of candidate genes to the top 1000 potential targets we could miss the one we are interested in, as it is possible that TalD RVDs poorly match to the EBE_{TalD}

sequence. Another possibility is that the gene inducing resistance in IR64 is a secondary target of TalD, and that TalD is inducing a transcription factor, at a low expression level, that will in turn induce the expression of an *R* gene whose expression will be higher than in the mock and/or susceptible conditions. This hypothesis would explain why a perfect match cannot be found in the different list of gene candidates between RNAseq, mapping and, TALE binding site predictions.

However, some of our candidates are interesting even if they don't match all the conditions. In a scenario where the gene responsible for resistance is targeted by TalD in both conditions (resistance and disease), but that the resistance activity is due to polymorphisms in the coding region, the gene *OsIR64_03g045980* coding for a SPL6 transcription factor would be a promising candidate. Squamosa Promoter binding Protein-Like (SPL) family genes encode transcription factors with a highly conserved DNA binding domain, known as SBP domain, and a bipartite nuclear localization signal motif, also highly conserved through the *SPLs* family (Klein et al. 1996; Cardon et al. 1999; Yamasaki et al. 2006). SPLs are usually known to be involved in the regulation of diverse processes, as plant growth, development, phytohormone signaling and stress responses (Zhong et al. 2019). In a previous study, an SPL6 transcription factor was reported in *Nicotiana benthamiana* to associates with the tobacco N immune receptor, an NLR protein that provides immunity against *Tobacco mosaic virus* (TMV). This association being detected only in the presence of the TMV effector, p50, it suggests that NbSPL6 is required for defense against TMV (Padmanabhan et al. 2013). Moreover, the presume ortholog of NbSPL6 in *Arabidopsis thaliana*, AtSPL6, has been pointed out to be required for the TIR-NB-LRR RPS4 immune receptor function against *Pseudomonas syringae* pv tomato (*Pst*) expressing the avrRps4 effector (Padmanabhan et al. 2013). Another candidate executor gene with a potential EBE for TalD is the CIPK3 serine-threonine protein kinase (*OsIR64_07g032900*) which is differentially expressed between the WT strain BAI3 and the mutant strain BAI3 Δ *talD*, but also in IR64 and Nipponbare, the resistant variety and the susceptible one. This candidate gene, unlike SPL6, has the exact same protein sequence in IR64 and Nipponbare. CIPK serine-threonine protein kinases are known to interact with calcineurin B-like (CBL) proteins. The latters are calcium sensor proteins that bind to the regulatory NAF domain of CIPK proteins, leading to the activation of the kinases in a calcium-dependent manner (Shi et al. 1999; Kim et al. 2000). The CBL-CIPK complex has been reported to be involved in various abiotic and biotic stress signaling, and more particularly in plant defense signaling in response to microbial infection (Pandey et al. 2014; Wang et al. 2016). Knowing that CIPKs form a complex with CBLs (Shi et al. 1999; Kim et al. 2000), it can be assumed that the protein sequence of the CIPK-interacting protein (CBL) is different in the two varieties, leading in one case to a resistance mechanism (IR64), and in another case to disease, due to lack of interaction between CIPKs and

CBLs (Nipponbare). Moreover, in a previous study it has been shown that OsCIPK31 interacts with diverse substrates in order to promote rice resistance against *Magnaporthe oryzae*, such as CBL2, CBL6, a VOZ transcription factor and the rice potassium channel protein OsAKT1 (Lin et al. 2021), hence expanding the list of candidate CIPK-interacting proteins. In addition, another study, reported the induction of two WRKY proteins, WRKY38 and WRKY62, by the salicylic acid-signaling activator, NPR1, activated and phosphorylated by CIPK11 after a bacterial infection (Xie et al. 2010). Regarding these two genes (*OsSPL6* and *OsCIPK3*), they encode a transcription factor and a kinase protein whose protein families are known to be involved in the activation of downstream pathways related to stress responses (Kolukisaoglu et al. 2004; Wang et al. 2018). Even if these genes are differentially expressed in both resistant and susceptible conditions, it is likely they induce, directly or not, a gene present in the QTL interval of *qABB-11* and which is either only present in the IR64 genome, or which has polymorphism in its coding sequence.

Regarding the genes in Table 4 differentially expressed in at least one of the three technical replicates, three of them *OsIR64_11g033220*, *OsIR64_11g032900* and *OsIR64_11g033060*, have been identified in two of the three replicates. These genes can be considered as good candidates for a novel type of BLB resistance gene as they are differentially expressed only in IR64 variety and they are located in the QTL interval of *qABB-11* revealed by MAI1 and BAI3 African *Xoo* strains. *OsIR64_11g033220*, coding for a GRAS-domain containing protein, represents a family of proteins which function as transcriptional regulators and play critical roles in development and signaling. GRAS-domain containing proteins are known to possibly interact with different types of transcription factors (TFs), such as basic helix-loop-helix type like Phytochrome interacting factors (PIFs), Spatula (STP), Alcatraz (ALC), and others classes of TFs, as Brassinazole Resistant1 (BZR1)/BES1, Ethylene Insensitive 3 (EIN3) or SPLs (Hakoshima 2018). *OsIR64_11g032900* encodes a putative xylanase inhibitor protein 1. Xylan is the major hemicellulose polymer in cell wall of cereals. To inhibit the hydrolytic activity of fungal and bacterial enzymes, like xylanase, from degrading the cell wall, plants produce xylanase inhibitors (Moscetti et al. 2015). A few studies reported that plants are able to sense the loss of cell wall integrity caused by the pathogen, and subsequently activate the defense signaling pathways (Bellincampi et al. 2014). Concerning *OsIR64_11g033060* gene, it produces non-coding RNAs, also named ncRNAs, they are usually grouped in two main classes: small (smRNAs) and long ncRNAs (lncRNAs). The first class is generally composed of RNA of less than 40 nucleotides (nts) in length which are involved in plant development and stress responses (Axtell 2013; Chitwood and Sinha 2014; Xie et al. 2015), whereas lncRNAs consist of 200 nts long, or more, RNA molecules, which do not encode any proteins. This second class of ncRNA are believed to be implied in different regulatory

mechanisms, such as histone and chromatin modifications, transcriptional regulation, target mimicking of miRNAs and post-transcriptional alterations (Yu et al. 2020).

Conclusions and Perspectives

Previously, we demonstrate the avirulence activity of TalD on IR64 (Lachaux et al. preprint). Here we report that this TALE depends on its activation domain to promote resistance, implying that TalD resistance in IR64 relies on the induction of an *E* gene. Through the combination of transcriptome analyses, binding-site prediction and mapping approach, candidate genes involved in the IR64 resistance against MAI1 and/or BAI3 were identified.

The next steps towards validation of these candidate genes are first to verify by RT-qPCR their induction in IR64 and Nipponbare, in infection condition (MAI1 or BAI3) vs. mock condition. If a candidate gene is also induced in Nipponbare, we will have to look more carefully at the coding sequence to see if there are polymorphisms between IR64 and Nipponbare sequences (as for the SPL6 protein), and for a possible secondary target of this gene that would be different between IR64 and Nipponbare. Afterwards, designer TALEs (dTALEs) could be generated and transformed into a virulent recipient, as PXO99^A, to see if there is a gain of resistance of IR64 by inducing these candidates. However, if a gain of resistance is observed upon the inoculation of one dTALE, it could be due to the induction of another gene ("off-target"). To avoid this risk, it will be necessary to design and test one or two other dTALEs targeting different sequences in the candidate gene promoter. We could also complement these previous analyses with ChIP-seq approach to improve the list of candidate genes targeted by TalD, or any other TALEs of MAI1 and BAI3.

Material and Methods

Bacterial strains and growth conditions

The bacterial strains used in this study are summarised in the Table X. *Xoo* strains were cultivated at 28°C in PSA medium (10 g peptone, 10 g sucrose, 1 g glutamic acid, 16 g agar, l⁻¹ H₂O). Rifampicin, kanamycin and gentamicin were added when appropriate to the medium at a final concentration of 100 µg/ml for each.

Plant material and plant inoculations

The resistant rice *indica* variety IR64, the susceptible *japonica* variety Nipponbare and the *japonica* landrace Azucena were used in this study. Experiments were performed under greenhouse conditions under cycles of 12 h of light at 28°C and 80% relative humidity (RH) and 12 h of dark at 25°C and 70% RH. Leaves of 3-week-old plants of IR64 and Nipponbare were inoculated by leaf-infiltration method (Schaad et al. 1996) with a bacterial suspension of an OD_{600nm} of 0.5. Three plants of each variety were inoculated with the *Xoo* strains MAI1, BAI3, BAI3 Δ *talD*(EV) and BAI3 Δ *talD*(*ptalD*) and with water as a "Mock" control, and the experiment was repeated three times. Leaves of 5-week-old plants were inoculated with the following *Xoo* strains MAI1, BAI3, BAI3 Δ *talD*(EV), BAI3 Δ *talD*(*ptalD*) and BAI3 Δ *talD*(*ptalD* Δ AD) by leaf-clipping method on IR64 and Azucena with a bacterial suspension of an OD_{600nm} of 0.2. Lesion lengths were scored 15 days post inoculation (dpi) on a minimum of eight plants, and the experiment was repeated three times.

RNA isolation and qRT-PCR

Leaves of 3-week-old rice plants were infiltrated with water or *Xoo* strains using an OD₆₀₀ of 0.5. At 24 hours post-inoculation, leaf segments from three plants were ground into a fine powder using the Qiagen Tissue-Lyser system (30 rps for 30 s, two times). Total RNA was isolated from rice leaves using Quiagen RNeasy plant mini kit following the manufacturer's recommendations (Quiagen). cDNA was generated from 1.6 µg RNA using the SuperScript ® III First-Strand Synthesis System for RT-PCR following the manufacturer's recommendations (Invitrogen). Real-time PCR was performed on the Mx3005p multiplex quantitative PCR system (Stratagene, La Jolla, CA, USA), using 3.5 µl of the Mesa blue 2X PCR MasterMix for SYBR® Green (Eurogentec, <http://www.eurogentec.com>), 2 pmol forward primer, 2 pmol reverse primer and 2 µl of the RT product diluted 10 times. For each gene, three independent biological replicates were analyzed. cDNA amounts were normalized using actin as housekeeping gene.

Bioinformatic analyses

STAR (Spliced Transcripts Alignment fo a Reference) software (Dobin et al. 2013) was used to map reads against the *Oryza sativa* cv. Nipponbare (version MSU7) and cv. IR64 (Rice Genome Hub platform versions; (Zhou et al. 2020) genomes. The count values for each transcripts generated were obtained using HTseq-count (Anders et al. 2015), and their differential expression was assessed using EdgeR (adjusted p.value = 0.1) (Robinson et al. 2009) and DESeq2 (adjusted p. value = 0.1) (Love et al. 2014).

Regarding EBE prediction, the software Talvez v.3.2 (default parameters) (Pérez-Quintero et al. 2013) used the 1000 bp located upstream of the translation start site of each gene to predicted binding sites for TalD in the two rice genomes. The top 1000 predicted targets with best score were kept for analyses.

Expression Analysis by Western Blotting

The *Xoo* strains carrying plasmid encoding native TALE or empty vector (pSKX1), were grown in liquid PSA medium supplemented with the corresponding antibiotics at 28°C. Cells of 1 ml of a bacterial suspension at an OD₆₀₀ of 0.4 were harvested and lysated with Laemmli buffer. TALE expression was analyzed by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of 4-15% and immunoblotted using the anti-TALE polyclonal antibody produced by (Read et al. 2016) followed by a horseradish peroxidase conjugated rabbit secondary antibody (Sigma-Aldrich). Detection was carried out using the Thermo Scientific™ Pierce™ ECL 2 Western Blotting Substrate kit and a Typhoon™ FLA 9500 (General Electric Healthcare Life Sciences, USA) for imaging.

References

- Anders S, Pyl PT, Huber W (2015) HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* 31:166–169. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTU638>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Axtell MJ (2013) Classification and comparison of small RNAs from plants. *Annu Rev Plant Biol* 64:137–159. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120043>
- Bellincampi D, Cervone F, Lionetti V (2014) Plant cell wall dynamics and wall-related susceptibility in plant-pathogen interactions. *Front. Plant Sci.* 5:228
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512. <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Cardon G, Höhmann S, Klein J, et al (1999) Molecular characterisation of the Arabidopsis SBP-box genes. *Gene* 237:91–104. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00308-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00308-X)
- Chen L-Q (2014) SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. *New Phytol* 201:1150–1155. <https://doi.org/10.1111/NPH.12445>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chitwood DH, Sinha NR (2014) Plant development: Small RNAs and the metamorphosis of leaves. *Curr Biol* 24:R1087–R1089. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.013>
- Cox KL, Meng F, Wilkins KE, et al (2017) TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. *Nat Commun* 8:15588. <https://doi.org/10.1038/ncomms15588>
- Cui H, Tsuda K, Parker JE (2015) Effector-Triggered Immunity: From Pathogen Perception to Robust Defense. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040012> 66:487–511. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ARPLANT-050213-040012>
- Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, et al (2013) STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics* 29:15–21. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTS635>
- Droc G, Dereeper A, Ruiz M, et al (2019) The south green rice genome hub

- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gu K, Sangha JS, Li Y, Yin Z (2008) High-resolution genetic mapping of bacterial blight resistance gene Xa10. *Theor Appl Genet* 116:155–163. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0655-5>
- Gu K, Tian D, Yang F, et al (2004) High-resolution genetic mapping of Xa27(t), a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 108:800–807. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1491-x>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Hakoshima T (2018) Structural basis of the specific interactions of GRAS family proteins. *Febs Lett* 592:489. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12987>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Jacques M-A, Arlat M, Boulanger A, et al (2016) Using Ecology, Physiology, and Genomics to Understand Host Specificity in *Xanthomonas*. *Annu Rev Phytopathol* 54:163–187. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100147>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Kim KN, Cheong YH, Gupta R, Luan S (2000) Interaction Specificity of Arabidopsis Calcineurin B-Like Calcium Sensors and Their Target Kinases. *Plant Physiol* 124:1844–1853. <https://doi.org/10.1104/PP.124.4.1844>
- Klein J, Saedler H, Huijser P (1996) A new family of DNA binding proteins includes putative transcriptional regulators of the *Antirrhinum majus* floral meristem identity gene SQUAMOSA. *Mol Gen Genet* 250:7–16. <https://doi.org/10.1007/BF02191820>
- Kolukisaoglu Ü, Weigl S, Blazevic D, et al (2004) Calcium Sensors and Their Interacting Protein Kinases: Genomics of the Arabidopsis and Rice CBL-CIPK Signaling Networks. *Plant Physiol* 134:43–58. <https://doi.org/10.1104/pp.103.033068>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>
- Lin QJ, Kumar V, Chu J, et al (2021) CBL-interacting protein kinase 31 regulates rice resistance to blast disease by modulating cellular potassium levels. *Biochem Biophys Res Commun* 563:23–30. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.05.065>

- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Love MI, Huber W, Anders S (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol* 15:1–21. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Moscetti I, Faoro F, Moro S, et al (2015) The xylanase inhibitor TAXI-III counteracts the necrotic activity of a *Fusarium graminearum* xylanase in vitro and in durum wheat transgenic plants. *Mol Plant Pathol* 16:583–592. <https://doi.org/10.1111/mpp.12215>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Padmanabhan MS, Ma S, Burch-Smith TM, et al (2013) Novel Positive Regulatory Role for the SPL6 Transcription Factor in the N TIR-NB-LRR Receptor-Mediated Plant Innate Immunity. *PLoS Pathog* 9:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003235>
- Pandey GK, Kanwar P, Pandey A (2014) Global Comparative Analysis of CBL-CIPK Gene Families in Plants. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-09078-8>
- Pérez-Quintero AL, Rodríguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK (2009) edgeR: A Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics* 26:139–140. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Römer P, Recht S, Lahaye T (2009) A single plant resistance gene promoter engineered to recognize multiple TAL effectors from disparate pathogens. *Proc Natl Acad Sci* 106:20526–20531. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0908812106>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Schaad N, Wang Z, Di M, et al (1996) An improved infiltration technique to test the pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice seedlings
- Schorneck S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>

Shi J, Kim KN, Ritz O, et al (1999) Novel Protein Kinases Associated with Calcineurin B–like Calcium Sensors in Arabidopsis. *Plant Cell* 11:2393–2405.
<https://doi.org/10.1105/TPC.11.12.2393>

Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to Xanthomonas oryzae pv. oryzae. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>

Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>

Wang QL, Sun AZ, Chen ST, et al (2018) SPL6 represses signalling outputs of ER stress in control of panicle cell death in rice. *Nat Plants* 4:280–288. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0131-z>

Wang Y, Sun T, Li T, et al (2016) A CBL-Interacting Protein Kinase TaCIPK2 Confers Drought Tolerance in Transgenic Tobacco Plants through Regulating the Stomatal Movement. *PLoS One* 11:e0167962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167962>

Wu L, Mei LG, Sreekala C, 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. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123356>

Xie C, Zhou X, Deng X, Guo Y (2010) PKS5, a SNF1-related kinase, interacts with and phosphorylates NPR1, and modulates expression of WRKY38 and WRKY62. *J Genet Genomics* 37:359–369. [https://doi.org/10.1016/S1673-8527\(09\)60054-0](https://doi.org/10.1016/S1673-8527(09)60054-0)

Xie F, Jones DC, Wang Q, et al (2015) Small RNA sequencing identifies miRNA roles in ovule and fibre development. *Plant Biotechnol J* 13:355–369. <https://doi.org/10.1111/pbi.12296>

Yamasaki K, Kigawa T, Inoue M, et al (2006) An Arabidopsis SBP-domain fragment with a disrupted C-terminal zinc-binding site retains its tertiary structure. *FEBS Lett* 580:2109–2116. <https://doi.org/10.1016/J.FEBSLET.2006.03.014>

Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>

Yu Y, Zhou YF, Feng YZ, et al (2020) Transcriptional landscape of pathogen-responsive lncRNAs in rice unveils the role of ALEX1 in jasmonate pathway and disease resistance. *Plant Biotechnol J* 18:679–690. <https://doi.org/10.1111/pbi.13234>

Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>

Zhong H, Kong W, Gong Z, et al (2019) Evolutionary Analyses Reveal Diverged Patterns of SQUAMOSA Promoter Binding Protein-Like (SPL) Gene Family in *Oryza* Genus. *Front Plant Sci* 0:565. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.00565>

Zhou Y, Chebotarov D, Kudrna D, et al (2020) A platinum standard pan-genome resource that represents the population structure of Asian rice. *Sci Data* 2020 71 7:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41597-020-0438-2>

Discussion générale

I. Le rôle central des effecteurs de type TAL dans le genre *Xanthomonas*

Les TALE étant des facteurs de virulence majeurs au sein de nombreuses espèces du genre *Xanthomonas*, les plantes hôtes ont développé au cours du temps différents subterfuges pour utiliser ces derniers contre le pathogène lui-même. Qualifiés alors de facteurs d'avirulence, les TALE se retrouvent à induire l'expression de gènes dits exécuteurs, promouvant des réactions de résistance de la plante (Zhang et al. 2015). Avant les études menées au cours de cette thèse, aucun gène d'avirulence n'avait encore été identifié chez des souches Africaines de *Xoo*, c'est pourquoi l'identification chez une souche Africaine de *Xoo*, durant ces travaux, de quatre gènes *tal* candidats ayant une activité d'avirulence, et la confirmation pour deux d'entre eux, a permis une grande avancée dans la caractérisation des effecteurs TAL Africains. Nous avons par ailleurs démontré que les domaines d'activation de la transcription de TalI et TalD étaient nécessaires à la réaction de résistance, suggérant donc l'induction de gènes exécuter. A ce jour, tous les gènes d'avirulence connus chez *Xoo* codent pour des effecteurs TAL (Tableau 5), à l'exception de *raxX* qui code pour un petit peptide sulfaté qui se lie directement avec une grande affinité au récepteur kinase (RLK-LRR) XA21 (Pruitt et al. 2015; Luu et al. 2019). Ainsi, les résultats obtenus au cours de cette thèse mettent en avant, une fois de plus, l'importance des TALE dans l'interaction avec leur hôte, et confirment qu'aborder la recherche de résistance à *Xanthomonas* en utilisant les TALE comme sonde est une approche fiable.

En 2000, Yang et ses collaborateurs démontrent que la région centrale des TALE permet à ces derniers de se lier à l'ADN et détermine les gènes ciblés (Yang et al. 2000). Quelques années plus tard, la découverte du code régissant la fixation des TALE à l'ADN s'en suit (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009) et promeut la création de multiples logiciels de prédiction d'EBE, tels que TALE-NT et Talvez (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013) parmi tant d'autres, favorisant par la suite l'identification de plusieurs gènes cibles. Le mécanisme de fixation des TALE étant de plus en plus étudié, on découvre que ces derniers sont capables d'induire des gènes en ciblant des EBE situées aussi sur le brin opposé (Wang et al. 2017). En 2019, un nouveau logiciel, nommé PrediTALe, prend en compte la dépendance putative entre les RVD adjacents et celle entre le premier RVD et la position zéro de la boîte cible (EBE), pour améliorer les prédictions de gènes ciblés (Erkes et al. 2019). Récemment, Erkes et ses collaborateurs étendent les capacités de cet outil afin qu'il prenne en compte l'accessibilité de la chromatine et l'état de méthylation de l'ADN pour la prédiction des boîtes cibles (Erkes et al. 2021).

Les TALE sont des effecteurs polyvalents développés par l'agent pathogène afin de cibler différentes séquences promotrices du génome de la plante hôte et induire une diversité de gènes cibles. Ces dernières années le domaine central de liaison à l'ADN des TALE a largement été étudié, mais la façon dont la machinerie de transcription de l'hôte est recrutée et si d'autres éléments sont nécessaires à ce mécanisme est une question qui subsiste. Les effecteurs TAL nous réservent encore bien des surprises, telles que de nouvelles cibles de résistance ou de sensibilité, de nouveaux dispositifs d'action pour lutter contre les réponses de défense de la plante (e.g. iTALE/truncTALE). Ainsi, afin de mieux comprendre ces mécanismes et pouvoir davantage contrôler la résistance, approfondir les études sur les TALE est nécessaire, et nous savons qu'un long chemin reste à parcourir.

II. Quelle est la meilleure approche pour identifier des gènes de résistance à *Xanthomonas* ?

A ce jour, il existe plusieurs catégories de gènes de résistance connus pour être induits par *Xanthomonas*. Par exemple, parmi les 12 gènes de résistance à *Xoo* qui ont été clonés, 9 induisent des résistances TALE-dépendantes. Ces dernières se regroupent en trois catégories: i) les résistances récessives provenant d'une perte de sensibilité, dues au polymorphisme de l'EBE au sein du promoteur d'un gène *S*, rendant ce dernier non-inductible par le TALE correspondant, ii) les résistances qui dépendent de l'induction d'un gène *R* par un TALE (gène *E*), et sans oublier iii) les résistances liées à l'activité de gènes *R* de la famille des NB-LRR.

En sachant que l'expression des gènes ciblés par les TALE est modifiée lors de l'interaction plante-pathogène (Strauß et al. 2012), et grâce à la découverte du code TALE-ADN (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009), de nombreuses approches de transcriptomique combinées à de la prédiction de cibles *in silico* ont pu être entreprises afin d'identifier de nouveaux gènes ciblés par les TALE dans différentes plantes hôtes. En 2012, une étude pionnière combinant une approche de RNAseq à des analyses de prédictions d'EBE a conduit à l'isolement chez la tomate du gène de résistance *Bs4C* ; le premier gène exécuteur identifié par approche de transcriptomique, induit par le TALE AvrBs4 de *X. euvesicatoria* (Strauß et al. 2012). L'analyse de transcriptome est une approche qui permet de détecter les gènes différentiellement exprimés et par conséquent les gènes potentiellement ciblés par les TALE. Cette approche permet aussi d'observer le changement d'expression d'un ensemble de gènes dérivant de cette cascade d'induction TALE-dépendante. Toutefois, l'approche RNAseq a ses limites, et bien que les gènes *E Bs4C* et *Xa7* (Strauß et al. 2012; Luo et al. 2021) aient été identifiés par cette voie, à ce jour, le profil d'expression des gènes *E* est encore peu étudié et peu compris; et si le profil d'expression, en intensité et au cours du temps, des gènes *E* est similaire, ou non, à celui des gènes *S*, qui sont fortement dérégulés, reste encore à être

démonstré. Il est possible que l'expression, même faible, d'un gène toxique pour la plante soit suffisante pour empêcher la bactérie de se multiplier. En outre, la combinaison d'un gène *E*, même exprimé faiblement, avec d'autres gènes pourrait permettre d'établir une résistance au sein de la plante hôte. La résistance quantitative se traduit par l'effet cumulé de plusieurs gènes (St.Clair 2010), ce qui pourrait d'un point de vue transcriptomique se manifester par un ensemble de gènes faiblement dérégulés. Par ailleurs, certains types de résistances comme celles reposant sur le gène *Bs4*, codant pour un NB-LRR constitutivement induit chez la tomate, ainsi que les gènes non-exécuteurs *Xa4*, *Xa21* et *Xa3/Xa26*, codant pour des protéines de la famille des RLK chez le riz, ne peuvent donc pas être mises en évidence par des approches de type RNAseq. Ces gènes de résistance n'appartenant pas à la famille des gènes *E* ont d'ailleurs été identifiés par une approche de cartographie génétique (Song et al. 1995; Yoshimura et al. 1998; Ballvora et al. 2001; Sun et al. 2003, 2004). Ce genre d'approche est utilisé depuis de nombreuses années pour caractériser, entre autres, des sources de résistance à divers pathogènes. Par exemple, des populations de double-haploïdes dérivant du croisement F_1 entre IR64 et Azucena ont permis la mise en évidence de plusieurs QTL conférant la résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV pour "Rice Yellow Mottle Virus"), ainsi qu'à la pyriculariose, dont l'agent pathogène est *M. oryzae* (Albar et al. 1998; Sallaud et al. 2003). De plus, une population de lignées dite MAGIC (pour "Multi-parent Advanced Generation Inter-Cross") provenant du croisement de huit variétés de riz *indica*, a permis d'identifier 18 QTL de résistance à *Xoo* (Huerta et al. 2021). Dans le contexte de cette thèse nous avons décidé de nous appuyer sur des analyses de cartographie génétique reposant sur le criblage d'une population de lignées recombinantes (RIL pour "Recombinant Inbred Lines") de génération F_{11} , provenant du croisement entre les variétés IR64 et Azucena. Ce criblage avait pour but de caractériser la résistance induite chez IR64 par MAI1 et BAI3. L'un des avantages de la cartographie est que cette approche sans a priori permet de mettre en lumière diverses sources de résistance qui, nous concernant, pourraient être TALE et non-TALE dépendantes.

Récemment, le gène exécuteur *Xa7*, provoquant la résistance du riz aux souches de *Xoo* porteuses des TALE AvrXa7 et PthXo3, a été cloné par plusieurs équipes simultanément (Chen et al. 2021; Luo et al. 2021; Wang et al. 2021). L'identification de *Xa7*, sur le chromosome 6, par ces équipes a commencé par une approche de cartographie il y a plus de 10 ans de cela (Porter et al. 2003; Chen et al. 2008; Zhang et al. 2009). Wang et ses collaborateurs ont par la suite utilisé une banque de clones BAC, couvrant l'intervalle révélé par les études de cartographie fine, ce qui leur a permis de mettre en lumière l'insertion d'une séquence d'environ 100 kb entre le génome de référence Nipponbare et la lignée quasi-isogénique IRBB7, comportant la région où se situe *Xa7* (Figure 22). Au sein de ces 100 kb, 35 ORF ("open reading frames") étaient prédites. En utilisant le logiciel de

prédiction d'EBE TALgetter (Grau et al. 2013), deux boîtes cibles pour le gène d'avirulence *avrXa7* ont été prédites, dont l'une se trouvait à 110 pb du codon d'initiation d'un gène candidat (Figure 22). Wang et ses collaborateurs ont décidé par la suite de valider ce candidat par une approche de gain-de-fonction consistant à transformer une variété de riz sensible à *Xoo* avec des clones comportant chacun une séquence, alliant le promoteur et/ou le gène candidat, de taille variable (Figure 23; Wang et al. 2021). D'un autre côté, la stratégie utilisée par Chen et ses collaborateurs, après avoir réduit l'intervalle de cartographie à 51 kb chez Nipponbare (Figure 24.A), a été de construire une banque de fosmides; chaque construction pouvant contenir jusqu'à 40 kb du génome de la variété résistante, Zhen-hui 084, portant *Xa7*. Après criblage par PCR de chaque fosmid, cinq clones ont été sélectionnés pour couvrir la totalité de la région *Xa7* (Figure 24.B). Contrairement à l'intervalle de 51 kb révélé chez Nipponbare, la région comportant *Xa7* chez Zhen-hui 084 était de 116 kb, et identique à cette même région chez IRBB7. Par la suite, une banque de mutants composée de plus de 20 000 lignées Zhen-hui 084 a été criblée, et parmi ces dernières une seule possédant une délétion de 107 kb dans la région *Xa7* s'est révélée être sensible aux souches de *Xoo* portant l'effecteur *AvrXa7* (Figure 24.C). En croisant les séquences des 116 kb révélés par les analyses de cartographie fine avec les 107 kb de délétion dans la lignée mutante (*zsm-2*), 28 kb se superposaient et révélèrent 7 gènes candidats (Figure 24.C). Chen et ses collaborateurs entreprirent alors la complémentation fonctionnelle d'une variété sensible à *Xoo* avec chacun de ces gènes candidats, ce qui les mena à l'identification de *Xa7* (Figure 24.D; Chen et al. 2021). Dans le cas de Luo et ses collaborateurs, les analyses de cartographie réduisant l'intervalle à 41 kb et 74 kb, respectivement chez Nipponbare et IRBB7, ont été suivies d'une approche de séquençage d'ARN nommée RAMPAGE (pour "RNA Annotation and Mapping of Promoters for the Analysis of Gene Expression") qui combine l'annotation des ARNm avec la cartographie de leur promoteur respectif (Figure 25.A; (Batut and Gingeras 2013; Raborn and Brendel 2019)). Par la suite, la création de mutations via la technologie CRISPR-Cas9 dans le gène candidat, mis en avant par la précédente analyse dans la variété NB7, qui provient du croisement entre Nipponbare et IRBB7, a permis de valider l'implication de ce dernier dans la résistance à *Xoo* (Figure 25.B). Pour terminer, Luo et ses collaborateurs ont mis en évidence, via les logiciels de prédiction d'EBE, Talvez et TALE-NT (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), une boîte cible pour chacun des TALE de *Xoo* *AvrXa7* et *PthXo3*, connus pour induire la résistance dans les variétés porteuses de *Xa7* (Hopkins et al. 1992; Luo et al. 2021).

En résumé, il s'avère qu'une combinaison des différentes approches énoncées ci-dessus semble être la solution idéale afin de parvenir à l'identification de gènes de résistance. C'est pourquoi, de notre côté nous avons tenté d'utiliser une stratégie similaire à Luo et ses collaborateurs, en combinant les analyses de cartographie, avec celles de transcriptomique ainsi qu'avec des prédictions d'EBE pour

TalD, afin d'affiner la liste de gènes candidats. Cependant, ce travail de recherche de gènes candidats reste laborieux, en partie car nous n'avons pas encore assez de recul sur le profil d'expression des gènes impliqués dans une résistance quantitative, type de résistance qui semble être induite par BAI3 chez IR64. Il se peut que le potentiel gène *E* induit par TalD ne soit que faiblement dérégulé, mais que ceci soit suffisant pour que son action cumulée avec celles des autres QTL mis en avant par BAI3 provoquent une diminution des symptômes.

III. La course aux armements: quelles sont les stratégies évolutives mises en place par la plante et la bactérie pour survivre ?

a) Evolution des gènes de résistance chez les plantes : les NB-LRR

Le nombre de NB-LRR au sein des génomes végétaux varie fortement, allant de quelques dizaines chez le kiwi et la papaye (González et al. 2015; Zhang et al. 2016; Baggs et al. 2017), à plusieurs milliers chez le blé (Andersen and Nepal 2019). Dans certains cas, l'adaptation aux pathogènes est un des facteurs qui conduit à la diversification des NB-LRR au sein d'une même espèce, comme cela a été observé chez *A. thaliana* (Van de Weyer et al. 2019) et chez *Solanum pennellii* (la tomate sauvage) (Stam et al. 2016, 2019). Les protéines de résistance peuvent fonctionner directement ou indirectement comme des récepteurs de protéines effectrices sécrétées par les agents pathogènes dans les cellules hôtes (Dangl et al. 2013; Cesari et al. 2014). Pour éviter d'être détectés, les effecteurs évoluent rapidement par perte de gènes et/ou par mutation. Afin de contrer cette évolution les plantes ont développé des processus qui permettent de maintenir la diversité des NB-LRR et de déployer des "pièges à pathogènes" efficaces. Mais comment cette diversification des NB-LRR peut-elle être réalisée dans un court laps de temps évolutif ? Une partie de l'expansion des CNL (ou CC-NB-LRR pour "Coiled-Coil Nucleotide-Binding Leucine-Rich-Repeat") chez les Solanacées et les Poacées a été attribuée à l'activité des rétrotransposons à longue répétition terminale (LTR) (Kim et al. 2017). Par ailleurs, la nature répétitive des protéines NB-LRR elles-mêmes leur permet d'évoluer en utilisant i) leur capacité de recombinaison promouvant ainsi la conversion des gènes (Mondragon-Palomino and Gaut 2005; Serra et al. 2018), et ii) la machinerie de réplication pour les duplications locales (Leister 2004). Cependant, les conversions et la duplication de gènes ne suffisent pas à elles seules pour générer une nouvelle reconnaissance des pathogènes. Les recombinaisons inter- et intra- géniques, ainsi que les mutations ponctuelles (Mago et al. 2015; Lu et al. 2016), jouent un rôle majeur dans la diversification des NB-LRR.

Dans le cadre de cette thèse nous avons identifié plusieurs allèles apparents de *Xa1*, un NB-LRR provoquant de la résistance contre les souches de *Xoo* Africaines. Il s'avère que l'un d'entre eux, *Xo1*, se situe dans une région riche en NB-LRR (Read et al. 2020). Des études sur le gène de

résistance à la rouille des feuilles, *Lr21*, montrent que l'allèle fonctionnel de ce dernier est une chimère de deux haplotypes *lr21* non fonctionnels (H1, H2) (Huang et al. 2009). Le gène de résistance fonctionnel *Lr21* peut être reconstitué expérimentalement par recombinaison intramoléculaire des haplotypes non-fonctionnels H1 et H2, ce qui indique que de nouveaux gènes de résistance fonctionnels pourraient avoir évolué, à l'origine chez les espèces sauvages, par recombinaison d'haplotypes non fonctionnels existants (Krattinger and Keller 2016). Sachant cela, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'un mécanisme similaire a pu se produire pour la création de *Xa1* et de ses allèles apparents, expliquant le nombre varié de répétitions de chacun des allèles. Cette hypothèse fait sens si l'on tient compte que l'un de ces allèles, *Xo1*, a été identifié dans une zone du génome riche en gènes codant pour des NB-LRR, ce qui pourrait favoriser les recombinaisons intergéniques (Read et al. 2020).

b) Evolution des gènes *tal* chez *Xanthomonas*

L'une des principales forces motrices de l'évolution des TALE est la modification des promoteurs de la plante hôte visant à éviter l'activation des gènes de sensibilité situés sous leur contrôle, ou de permettre l'activation des gènes de résistance de type exécuteur. Ainsi, du côté de la bactérie des modifications au niveau de la séquence en RVD des TALE sont apportées permettant de rétablir l'activation des gènes de sensibilité ou d'éviter celle des gènes de résistance (Hutin et al. 2015). D'un point de vue mécanistique, les comparaisons de séquences des gènes *tal* ont montré que des événements de recombinaison, des mutations ponctuelles (affectant les RVD), de la duplication et des insertions/délétions peuvent se produire au niveau des répétitions des gènes *tal* (Figure 26.A; (Erkes et al. 2017; Schandry et al. 2018). Cependant, des événements de recombinaison peuvent aussi avoir lieu en dehors des répétitions (Denancé et al. 2018). Selon plusieurs études, la délétion/duplication des répétitions proviendrait d'erreurs de réplication en raison du haut degré de conservation des répétitions, ce qui pourrait entraîner la formation de boucles dans la fourche de réplication (Erkes et al. 2017), ou d'un mauvais appariement des brins glissés (Schandry et al. 2018). Les réarrangements génomiques des gènes *tal* seraient aussi dus à des mécanismes de transposition utilisant par exemple des séquences d'insertion (IS), des transposons de type Tn3 ou Tn*Xax1*, ou encore des intégrons (Figure 26.B; (Ferreira et al. 2015; Erkes et al. 2017; Ruh et al. 2017). Un exemple de recombinaisons inter-géniques entre les répétitions de différents *tal* de *Xanthomonas* est retrouvé avec les souches Africaines de *Xoo* MAI1 et BAI3, dont le groupe TalF possède certains RVD qui auraient recombinaison avec le groupe TalH et TalG (Figure 27 ; (Tran et al. 2018). Il a été proposé que les protéines contenant des répétitions soient très instables d'un point de vue évolutif car elles sont soumises à des taux de mutation très élevés lors des recombinaisons, ce qui entraîne des changements dans le nombre et l'ordre des répétitions (Mesarich et al. 2015). De

plus, il a été rapporté que les espèces de *Xanthomonas* ayant de grands TALomes comme *Xoo* (allant de 8 à 20 TALE) présentent de fréquents réarrangements (Ponciano et al. 2004; Schandry et al. 2018). Il semblerait donc que le fait d'avoir plus de répétitions disponibles conduirait à un processus d'évolution plus rapide.

En 2000, Vera Cruz et ses collaborateurs ont observé aux Philippines le contournement de la résistance médiée par *Xa7* par les souches Asiatiques de *Xoo* de la race 9. Dans cette étude, diverses stratégies de contournement mises en place par les souches de *Xoo*, ont pu être identifiées allant du réarrangement intra-génique, créant du polymorphisme au niveau du locus *avrXa7*, à la présence de mutations à l'extrémité 3' de *avrXa7*. Cependant, la race 9b, bien qu'ayant son agressivité légèrement augmentée sur les variétés de riz portant *Xa7*, comporte toujours un allèle intact de *avrXa7*. Au cours de cette étude, des analyses de Southern blot ont révélé un fragment de 4,2 kb s'hybridant à la sonde *tal*, qui pourrait s'avérer être l'élément ayant permis aux souches de la race 9b de se maintenir au champ année après année (Vera Cruz et al. 2000).

On en revient à cette course aux armements qui confronte le pathogène et son hôte, créant un besoin d'évoluer toujours plus rapidement afin de s'adapter. Suivant cette hypothèse, les populations de pathogènes bénéficieraient alors d'un arsenal d'effecteurs variés afin de contrer les changements génétiques de son hôte. Concernant les TALE, nous pouvons donc supposer que les effecteurs pour lesquels aucun rôle de virulence n'a encore été identifié serviraient de réservoir de recombinaison/mutation pour générer de nouveaux variants virulents lorsque le pathogène rencontre un nouvel hôte résistant (Yang et al. 2005).

IV. Quels sont les mécanismes qui régissent l'évolution des TALomes ?

Comme supposé précédemment avec l'évolution des gènes *tal*, l'évolution des TALomes, de leur diversité de taille et de composition, pourrait être le résultat de programmes de sélection et de déploiement rapide de cultivars résistants aux xanthomonades. Par exemple, le riz est une culture céréalière qui a fait l'objet d'une sélection intensive dans les pays asiatiques et ce depuis une longue période. En revanche, la sélection du riz dans les pays africains nous ramène à une période beaucoup plus récente (Vaughan et al. 2008). Cette différence peut être reliée à la disparité de taille des TALomes entre les souches Asiatiques et Africaines de *Xoo* qui comportent respectivement jusqu'à 19 et jusqu'à 9 TALE (Gonzalez et al. 2007; Salzberg et al. 2008). Concernant la différence de composition de ces derniers, dans lesquelles on ne retrouve aucun TALE similaire, ceci pourrait s'expliquer par les cultivars distincts utilisés en Asie et en Afrique menant les souches Africaines et Asiatiques de *Xoo* à être confrontées à sources de résistance contrastées. Il peut alors être proposé que l'expansion des TALomes est une caractéristique qui a été sélectionnée en réponse à la

résistance des plantes, car elle permet aux bactéries de développer des stratégies de contre-défense et de s'adapter rapidement aux nouveaux cultivars (Schandry et al. 2018).

Si l'expansion des TALomes est le résultat d'une adaptation pour contrer les défenses de la plante hôte, comment expliquer que chez certaines souches Africaines de *Xoo*, des *tal* tendent à disparaître ? (Diallo et al., in prep). Une étude réalisée sur une collection de souches de *Xoo* provenant du Burkina Faso a permis de révéler six nouveaux profils de TALome, en comparaison aux deux profils des souches Africaines de référence MAI1 et BAI3 provenant du Mali et du Burkina Faso, respectivement (Figure 28 ; Diallo et al., in prep). Parmi ces six nouveaux profils, cinq ne possèdent pas de groupe correspondant à TalH. Un des profils ne contient plus de groupe s'apparentant ni à TalF, ni à TalH, et un autre est démuné des groupes TalD et TalH. De plus, deux des six profils ont aussi perdu le groupe s'apparentant à TalI (Figure 28 ; Diallo et al., in prep). Si on compare avec les résultats obtenus au cours de ma thèse, il semblerait que les TALE d'avirulence identifiés (même si uniquement candidats), c'est-à-dire TalF, TalI, TalH et TalD, tendent à disparaître des TALomes africains. A l'inverse de l'expansion des TALomes, nous pouvons imaginer qu'ici la bactérie utilise une autre stratégie pour lutter contre les mécanismes de défenses de la plante en se débarrassant des effecteurs d'avirulence. Des exemples similaires ont été rapportés dans les cas des champignons *M. oryzae* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Des études démontrent que la présence d'un élément transposable dans les gènes d'avirulence *AVR-Pita* et *AVR1*, respectivement, cause leur inactivation et provoque ainsi un gain de virulence des pathogènes (Kang et al. 2001; Inami et al. 2012). Cependant, une étude préliminaire réalisée au cours de ma thèse, consistant à tester sur IR64 une souche de chaque nouveau profil de TALome identifié, a montré qu'aucune perte d'avirulence n'est associée à la disparition de TalD ou TalH, précédemment rapportés pour induire de la résistance sur cette variété.

V. Que nous reste-t-il à découvrir encore sur les TALE ?

Les TALE sont des protéines à la structure complexe dotées de capacités surprenantes pour des effecteurs bactériens. La découverte de leur existence s'en est suivie de la compréhension de leur structure si particulière, leur permettant d'aller jusqu'au noyau des cellules eucaryotes mais aussi de se fixer au double brin de l'ADN et ainsi d'agir comme des facteurs de transcription eucaryote. En 2009, le code permettant de comprendre l'interaction TALE-ADN est déchiffré (Boch et al. 2009; Moscou and Bogdanove 2009), ce qui aida au développement de la technologie TALEN permettant l'édition du génome plus aisément (Bogdanove and Voytas 2011). Grâce à leur capacité à fixer le promoteur de leur gènes cibles, et le développement de logiciel de prédiction de cibles *in silico* (Doyle et al. 2012; Pérez-Quintero et al. 2013), les TALE ont aussi permis la découverte de gènes S

et la mise en évidence de nouveaux gènes *R* tels que les gènes *E* (Yang et al. 2006; Antony et al. 2010; Strauß et al. 2012; Wang et al. 2015). Nous pensions avoir déjà tout vu, tout compris. Puis vint la découverte de variants TALE, nommés iTALE ou truncTALE, qui possèdent des délétions dans leur parties N- et C-terminales et dont la région centrale semble toujours fonctionnelle (Ji et al. 2016; Read et al. 2016). Ces variants TALE permettent d'atténuer les réponses de défenses de la plante causées par le NB-LRR *Xa1* et ses allèles, chez le riz (Ji et al. 2016, 2020; Read et al. 2016). Ces dernières découvertes interrogent sur ce que nous réservent encore ces effecteurs. Si nous savons à l'heure actuelle que les TALE induisent l'expression des gènes qu'ils ciblent, nous n'avons aucune idée sur leur potentielle capacité à réprimer l'expression des gènes. Par ailleurs, leur domaine central étant composé de régions répétées en tandem, nous pouvons supposer que les TALE interagissent avec d'autres protéines, comme le font les NB-LRR, afin de réguler leur activité (positivement ou négativement) (Cesari et al. 2014), ou d'être régulés eux-mêmes. Il a été rapporté qu'en l'absence de pathogènes, des miRNA et siRNA secondaires agissent dans la régulation de l'expression des gènes NB-LRR pour réprimer ces récepteurs immunitaires, puis pour restaurer leurs niveaux basaux dans les phases tardives de l'infection (Zhai et al. 2011; Shivaprasad et al. 2012; Li et al. 2012). Nous pourrions donc émettre l'hypothèse que certains TALE sont réprimés par des mécanismes similaires, ou bien que l'interaction entre des petits ARN et des TALE induise des réponses de défenses de la plante.

VI. Quelles sont les stratégies pour maintenir la résistance des cultures ?

Le type de résistance le plus fréquemment exploité pour les cultures économiques est la résistance gène pour gène (Flor 1971; Gururani et al. 2012). Cette dernière consiste en l'interaction d'une seule protéine de résistance (*R*) de la plante avec une seule protéine d'avirulence (*Avr*) du pathogène. Cette interaction provoque généralement une cascade de réponses de défenses menant le plus souvent à la mort cellulaire locale de la plante, permettant de piéger le pathogène. On peut noter que ce type de résistance est présent autant dans la nature, en l'absence d'anthropisation, que dans le domaine agricole (Barrett et al. 2009; Gururani et al. 2012). Toutefois, la simplicité du modèle gène pour gène (une seule protéine *R* conférant la résistance à tous les pathogènes possédant la protéine *Avr* correspondante) est également ce qui le rend si vulnérable. Pour que l'agent pathogène puisse échapper à la reconnaissance de l'hôte plusieurs mécanismes d'évitement peuvent être mis en place, allant de la simple mutation ponctuelle du gène *Avr* reconnu (Dong et al. 2014) à la délétion du gène entier (Wichmann and Bergelson 2004). De plus, la forte pression de sélection exercée par des hôtes génétiquement uniformes dans les cultures actuelles ne fait qu'accélérer l'évolution des agents pathogènes pour surmonter ces résistances monogéniques, dont l'efficacité dépasse rarement une décennie (McDonald and Linde 2002a; Brown 2015). L'une des clés pour éviter la propagation des

agents pathogènes est d'accroître la complexité des schémas de résistance (McDonald and Linde 2002b). Pour cela, l'association de plusieurs loci, qui contribuent de manière additive ou redondante à la résistance, forcerait l'agent pathogène à évoluer de manière à surmonter plusieurs sources de résistance génétiques distinctes. Diverses stratégies suivant ce principe peuvent être mises en place dans les systèmes de cultures. En partant de la plus simple à la plus complexe, la première méthode consiste à répartir des gènes, dont l'action est redondante, dans divers hôtes de telle sorte que l'ensemble de la population exprime uniformément la résistance, mais avec des bases génétiques sous-jacentes différentes (Mundt 2002; M'Barek et al. 2019). Ce concept peut aussi être transposé à l'échelle d'un seul et même individu qui porterait plusieurs gènes *R*, et est nommé pyramidage de gènes (Zhang et al. 2006; Zhu et al. 2012). Dans le contexte de cette thèse, nous avons mis en évidence un cas de pyramidage naturel de plusieurs sources de résistance aux souches de *Xoo* Africaines dans la variété de riz CT13432, reposant sur l'induction d'un gène exécuteur par *Tall*, ainsi que sur un mécanisme de résistance de type *Xa1*. Par ailleurs, il s'avère que des gènes de résistance à *M. oryzae*, agent causal de la pyriculariose, aient déjà été identifiés dans cette variété, faisant de cette dernière un excellent réservoir de sources de résistance pour créer des variétés améliorées pour l'Afrique. Cependant, il arrive que certains gènes *R* ne soient pas compatibles les uns avec les autres, menant parfois à une forme d'auto-immunité favorisant la résistance au détriment de la biomasse (Chae et al. 2014; Barragan et al. 2019).

La résistance gène pour gène est souvent qualifiée de résistance qualitative, impliquant que les phénotypes observés sont soit de la résistance, soit de la maladie. Cependant il existe d'autres types de résistances que l'on nomme quantitatives car les phénotypes qui en ressortent ne sont pas binaires, mais plutôt graduels. Les résistances quantitatives sont le reflet de l'action de plusieurs gènes, dont la contribution ne permet pas une absence de maladie, mais une réduction de cette dernière (Poland et al. 2009; St.clair 2010; Roux et al. 2014). Comme nous avons pu le caractériser au cours de cette thèse (chapitre 2) la résistance induite par *BAI3* chez *IR64* est la conséquence de l'effet de plusieurs loci. Ce genre de résistance est plus difficilement surmontable par un pathogène, de par le nombre de gènes impliqués mais aussi de par les interactions possibles entre eux et avec l'environnement. Il est donc primordial de caractériser ce type de résistance, bien que complexe, afin de pouvoir exploiter au maximum ces ressources génétiques pour lutter contre les pathogènes.

Conclusions & Perspectives

Au cours de cette thèse, pour la première fois chez des souches Africaines de *Xoo*, deux TALE possédant une activité d'avirulence, et qui induiraient l'expression d'un gène *E* ont été identifiés. D'autre part, un mécanisme de résistance à large spectre actif contre les souches Africaines de *Xoo* a été caractérisé dans plusieurs accessions de riz. Les travaux menés pendant cette thèse ont aussi permis de mettre en lumière plusieurs QTL conférant de la résistance aux souches Africaines MAI1 et BAI3 dans la variété de riz élite IR64. Et pour finir une série de gènes candidats sous-jacents à la résistance de IR64 à MAI1 et BAI3 a été identifiée.

Les résultats obtenus démontrent l'utilité de combiner les approches de gain- et de perte-de-fonction qui se sont révélées être complémentaires et qui ont permis une grande avancée dans la caractérisation du rôle des TALE Africains dans la résistance. L'identification de différents profils de résistance chez IR64 grâce à l'approche de cartographie nous aide à mieux comprendre les divers mécanismes de résistance induits par MAI1 et BAI3. De plus, ces résultats mettent en avant l'importance d'utiliser plusieurs approches telles que la cartographie, l'analyse de transcriptome et la prédiction de cibles, pour identifier des gènes candidats. Chaque jeu de données produit et analysé étant imparfait et ayant ses limites, la combinaison de ces approches permet d'augmenter la probabilité d'identifier le bon candidat. Pour aller plus loin dans l'étude de la résistance induite par TalI chez CT13432, il serait intéressant d'utiliser une approche de type ChIP-seq ("chromatin immunoprecipitation sequencing"). Cette dernière permet d'étudier les interactions ADN/protéine à l'échelle du génome en combinant l'immunoprécipitation de la chromatine avec le séquençage de fragments d'ADN ciblés par des protéines, dans notre cas TalI. Le croisement de ces données avec des analyses de RNAseq et de prédictions d'EBE, si le génome séquencé de cette variété était disponible, favoriserait l'identification du gène *E* induit par TalI. Cette méthode de type ChIP-seq pourrait aussi être utile pour parfaire la liste de gènes candidats déjà établie dans le cas de la résistance induite chez IR64 par TalD, mais potentiellement aussi par d'autres TALE de BAI3 et MAI1. Par la suite, il serait capital de tester les gènes candidats des différents QTL identifiés, tout d'abord en regardant leur niveau d'expression par qPCR, puis en créant des TALE artificiels pour voir si leur induction promeut de la résistance. Enfin, la création de lignées éditées dans ces gènes, ou la transformation de lignées sensibles avec ces gènes de résistance candidats permettrait de confirmer leur rôle.

In fine, il sera primordial d'évaluer le spectre de résistance conféré par les gènes *E* induit par TalI et TalD dans leur variété respective, afin de déterminer si ces gènes peuvent être déployés aux champs

pour lutter contre une large gamme de souches ou uniquement contre MAI1 et BAI3. Dans le but de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à ces résistances, il sera important de poursuivre la caractérisation des TALomes Africains, et plus particulièrement des gènes d'avirulence, afin de déployer des sources de résistance plus durables. L'évaluation de la durabilité des résistances identifiées dans cette étude est fondamentale pour les projets futurs, car comme rapporté précédemment une course aux armements perpétuelle se déroule entre les pathogènes et leur hôtes. C'est pourquoi à l'avenir, identifier et déployer des résistances quantitatives, relevant de l'interaction de plusieurs gènes entre eux et/ou avec l'environnement, mais aussi des variétés cumulant plusieurs gènes de résistance agissant indépendamment contre le même pathogène, sera indispensable afin de lutter contre les mécanismes d'échappement de certaines bactéries. Finalement, étudier les mécanismes d'évolution des répertoires d'effecteurs bactériens, tels que les TALE, via des analyses de type MLVA permettrait de mieux appréhender les stratégies de contournement de la résistance et d'assurer une durabilité pérenne dans les cultures.

Annexes

Confirmation report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* in Senegal

Hamidou Tall^{1,4}, Marlène Lachaux¹, Amadou Diallo^{1,2}, Issa Wonni², Cheick Tékété³, Valérie Verdier¹, Boris Szurek¹ and Mathilde Hutin¹

¹PHIM Plant Health Institute, IRD, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

²Institut de l'Environnement et Recherches Agricoles, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

³USTT-B, FST, DER, LaboREM-Biotech, Bamako, Mali.

⁴Institut Sénégalais de Recherches Agricole (ISRA), Kolda, Sénégal

Xanthomonas oryzae pv. *X. oryzicola* (*Xoc*), the causal agent of Bacterial Leaf Streak (BLS), is considered as one of the most important emerging pathogens of rice in Africa. This disease is estimated as responsible of 20 to 30% yield loss (Sileshi et Gebeyehu 2021) and has been characterized in several west African countries including Mali and Burkina Faso since 2003 and more recently in Ivory Coast (Wonni et al. 2014, Diallo et al. 2021). Presence of BLS symptoms in Senegal were reported by Trinh in 1980 but, to our knowledge, BLS occurrence has never been validated further and no strain of *Xoc* have ever been isolated from Senegalese rice fields. *Xoc* is transmitted by seeds which contribute to its spread through the rice trade (Sileshi et Gebeyehu 2021). To confirm Trinh's observations, we surveyed rice fields between 2014 and 2016 in eight different regions where rice is produced in Senegal. Typical disease symptoms characterized by yellow-brown to black translucent leaf streaks sometimes along with exudates, were detected in fields of several regions and collected. Leaf pieces were successively sanitized, rinsed in sterile water, and symptomatic fragments were ground using the Qiagen Tissue Lyser System (QIAGEN, Courtaboeuf, France). The leaf powder was diluted in 1.5 ml of sterile water and incubated for 30 minutes at room temperature. Ten µl of the suspension was streaked on semi-selective PSA medium and incubated at 28°C for 3 to 7 days. Characteristic round, convex, mucous, straw-yellow *Xoc* candidate colonies were purified from six individual leaf samples from three distinct sites in the northern Senegal River Valley. To confirm their identity, isolated strains were tested for pathogenicity and molecular characterization. All isolates were subjected to the multiplex PCR developed for the identification of *X. oryzae* pathovars (Lang et al., 2010) and revealed the same PCR profile (two amplicons of 324 and 691 base pairs) similar to that of the *Xoc* reference strain

BLS256. Leaves of 5-week-old plants of *O. sativa* cv. Kitaake were infiltrated with a needleless syringe containing a bacterial suspension set at an optical density of 0.5. Upon seven days of incubation under greenhouse conditions ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ with a 12-hour photoperiod), all infiltrated spots (2 spots on 3 plants per isolate) developed water-soaked lesions similar to those caused by control strain BLS256, except when leaves were infiltrated with water. Symptomatic leaf tissues were ground and plated on PSA medium, resulting in colonies with typical *Xanthomonas* morphology that were diagnosed as *Xoc* by multiplex PCR typing, thus fulfilling Koch's postulate. At last, four of the isolates were subjected to *gyrB* sequencing upon PCR amplification using the universal primers XgyrB1F and XgyrB1R (Young et al., 2008). Analysis of 780bp partial *gyrB* sequences of strains S18-3-4, S23-1-12, S52-1-4 and S52-1-10 highlighted 100% identity with the *gyrB* sequence of strain BLS256 (Acc. No. CP003057). To our knowledge, this is the first report of BLS in Senegal which is supported by molecular characterization methods. This study validates the presence of BLS in Senegal and will serve as a basis for future efforts of rice breeding for locally adapted resistance. More studies are needed to clarify the spatial distribution and prevalence of BLS in Senegal as rice cultivation is expanding rapidly in the country.

Acknowledgments.

We acknowledge funding from West Africa Agricultural Productivity Programme (WAAPP).

References:

- Diallo, A et al, 2021. « First report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* in Ivory Coast ». *Plant disease*; 0191-2917
- Lang, J et al, 2010. « Genomics-based diagnostic marker development for *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *X. oryzae* pv. *X. oryzicola* ». *Plant disease* 94 (3) : 311-19.
- Sileshi, G W, and Gebeyehu S. 2021. « Emerging infectious diseases threatening food security and economies in Africa ». *Global Food Security* 28 : 100479.
- Trinh, T T, 1980. « New Rice Diseases and Insects in the Senegal River Basin in 1978/79. » *International Rice Commission Newsletter* 29 (2).
- Wonni, I et al, 2014. « Analysis of *Xanthomonas oryzae* pv. *X. oryzicola* population in Mali and Burkina Faso reveals a high level of genetic and pathogenic diversity ». *Phytopathology* 104 (5): 520-31.
- Young, J M et al, 2008. « A multilocus sequence analysis of the genus *Xanthomonas* ». *Systematic and applied microbiology* 31 (5): 366-77.

>gyrB_S18-3-4

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S23-1-12

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S52-1-4

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_S52-1-10

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCGGAGCTGATCGAGCG
CGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAGCTGTATCTGAAGGACGATGCCCGCTCAA
CGCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGTGATTCCGGCCACCGACGAGCCGCGATCACCGGCCAAGCGCTGGAAAA
ACTGCTGATGCTGTTACACGCGCCAACGAAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGAC
CTGCCGCCGCTGGATGTGGAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGGC
ACCCTGGGCACCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCGATCCGCCGTCATATGG
GCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGTCCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATG
ATCTGGTGCAGGCGCGCAGATCGTGCAGGCAACAAGAGCCACCGATCACAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGG
ACGAGGCCAAGAAAGGCCCGCAGGTCCAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGAAACCACGG

>gyrB_BLS256

tgatgaccgacgcccagctgacggctgcacatccgtacctgttgctgaccttcttctaccggcagatgccggagctgatcgagcgggctacatctatcggcctgccc
ccgctgtacaagctcaagcaggcaagagcagctgtatctgaaggacgatgccgctcaacgcctacctggccagcaatgcggtggaaggtgaggcgctgattccggc
caccgacgagcccgatcaccggcgaagcgtggaaaaactgctgatgctgtaccagcgcgaacgaagcgattgcgcgcaacgcgaccgctacgaccggctttg
ctgaccgattgatgacctgcccggctggatgtggaacctgcatgccgaaggcaaccgatccggccctggatgctgagcagtcagtcgcaatcgccgaccctg
ggcaccgcgctaccagttgcttcgaccggcactgagaacgcgctgcccagctggtggcgatccgctcatatggcggaagaattcaccaggtgctgcccgat
ggggcgcttcaaaagcggcagctgctgctgaggtatgctggccctgcatgatctggtgctgagggcgcgagatgctgctgagcggcaacaagacc
gatcaccagcttcgagcagggcgacgctgctgctgacgagggcaagaaggccgacgctcagcgttcaagggcctggcggaatgaacgccgagcagctgtg
gaaaccacgg

Références bibliographiques

i) Introduction

- Abouelhoda M, El-Kalioby M, Giegerich R (2010) WAMI: a web server for the analysis of minisatellite maps. *BMC Evol Biol* 2010 10:1–9. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-167>
- Adachi H, Derevnina L, Kamoun S (2019) NLR singletons, pairs, and networks: evolution, assembly, and regulation of the intracellular immunoreceptor circuitry of plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 50:121–131
- Ádám AL, Nagy ZÁ, Kátay G, et al (2018) Signals of Systemic Immunity in Plants: Progress and Open Questions. *Int J Mol Sci* 2018, Vol 19, Page 1146 19:1146. <https://doi.org/10.3390/IJMS19041146>
- Ade J, DeYoung BJ, Golstein C, Innes RW (2007) Indirect activation of a plant nucleotide binding site–leucine-rich repeat protein by a bacterial protease. *Proc Natl Acad Sci* 104:2531–2536. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0608779104>
- Afolabi O, Milan B, Poulin L, et al (2014) First Report of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* Causing Bacterial Leaf Streak of Rice in Uganda. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0745-PDN> 98:1579. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0745-PDN>
- Afolabi T, Fundação RA, Cruz O, et al (2016) First Report of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* Causing Bacterial Leaf Streak of Rice in Burundi Diversity of blast, Rice Yellow Mottle Virus, *Pantoea* spp. and *Sphingomonas* spp. in Africa and screening rice germplasm for disease resistance View project Pathogen-Host interaction for Rice blast disease in Uganda View project. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-14-0504-PDN>
- Ainsworth EA (2008) Rice production in a changing climate: A meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Glob Chang Biol* 14:1642–1650. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>
- Al-Saadi A, Reddy JD, Duan YP, et al (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. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-20-8-0934> 20:934–943. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-8-0934>
- Albar L, Lorieux M, Ahmadi N, et al (1998) Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus. I. QTLs identification and relationship between resistance and plant morphology. *Theor Appl Genet* 1998 977 97:1145–1154. <https://doi.org/10.1007/S001220051003>
- Albar L, Ndjiondjop M-N, Eshak · Z, et al (2003) Fine genetic mapping of a gene required for Rice yellow mottle virus cell-to-cell movement. *Theor Appl Genet* 107:371–378. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1258-4>
- Alfano JR, Collmer A (2004) TYPE III SECRETION SYSTEM EFFECTOR PROTEINS: Double Agents in Bacterial Disease and Plant Defense.

<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040103.110731> 42:385–414. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.42.040103.110731>

- Ali ML, Sanchez PL, Yu S bin, et al (2010) Chromosome segment substitution lines: A powerful tool for the introgression of valuable genes from *Oryza* wild species into cultivated rice (*O. sativa*). *Rice* 3:218–234. <https://doi.org/10.1007/s12284-010-9058-3>
- Allaby RG, Fuller DQ, Brown TA (2008) The genetic expectations of a protracted model for the origins of domesticated crops. *Proc Natl Acad Sci* 105:13982–13986. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0803780105>
- Alvarez-Martinez CE, Christie PJ (2009) Biological Diversity of Prokaryotic Type IV Secretion Systems. *Microbiol Mol Biol Rev* 73:775–808. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00023-09>
- Andersen EJ, Nepal MP (2019) Diversification of Disease Resistance Receptors by Integrated Domain Fusions in Wheat and its Progenitors. *bioRxiv* 695148. <https://doi.org/10.1101/695148>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Arumuganathan K, Earle ED (1991) Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol Biol Report* 1991 93 9:208–218. <https://doi.org/10.1007/BF02672069>
- Ashikawa I, Hayashi N, Yamane H, et al (2008) Two Adjacent Nucleotide-Binding Site–Leucine-Rich Repeat Class Genes Are Required to Confer Pikm-Specific Rice Blast Resistance. *Genetics* 180:2267–2276. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.095034>
- Aslam SN, Newman MA, Erbs G, et al (2008) Bacterial Polysaccharides Suppress Induced Innate Immunity by Calcium Chelation. *Curr Biol* 18:1078–1083. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2008.06.061>
- Aung K, Jiang Y, He SY (2018) The role of water in plant–microbe interactions. *Plant J* 93:771–780. <https://doi.org/10.1111/tpj.13795>
- Awoderu VA, Bangura N, John VT (2008) Incidence, distribution and severity of bacterial diseases on rice in West Africa. <http://dx.doi.org/10.1080/09670879109371553> 37:113–117. <https://doi.org/10.1080/09670879109371553>
- Axtell MJ, Staskawicz BJ (2003) Initiation of RPS2-Specified Disease Resistance in *Arabidopsis* Is Coupled to the AvrRpt2-Directed Elimination of RIN4. *Cell* 112:369–377. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00036-9)
- Azzam O, Chancellor TCB (2002) The Biology, Epidemiology, and Management of Rice Tungro Disease in Asia. 86:88–100
- Baggs E, Dagdas G, Krasileva K V. (2017) NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR IDentity. *Curr Opin Plant Biol* 38:59–67. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2017.04.012>

- Ballvora A, Pierre M, Van den Ackerveken G, et al (2001) Genetic mapping and functional analysis of the tomato Bs4 locus governing recognition of the *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* AvrBs4 protein. *Mol Plant-Microbe Interact* 14:629–638. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.5.629>
- Balmer D, Planchamp C, Mauch-Mani B (2013) On the move: induced resistance in monocots. *J Exp Bot* 64:1249–1261. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERS248>
- Bandillo N, Raghavan C, Muyco PA, et al (2013) Multi-parent advanced generation inter-cross (MAGIC) populations in rice: Progress and potential for genetics research and breeding. *Rice* 6:1–15. <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-11>
- Baptista JC, Machado MA, Homem RA, et al (2010) Mutation in the xpsD gene of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* affects cellulose degradation and virulence. *Genet Mol Biol* 33:146–153. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572009005000110>
- Bari R, Jones JDG (2009) Role of plant hormones in plant defence responses. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9435-0>
- Barragan CA, Wu R, Kim ST, et al (2019) RPW8/HR repeats control NLR activation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet* 15:e1008313. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008313>
- Barrett LG, Thrall PH, Dodds PN, et al (2009) Diversity and Evolution of Effector Loci in Natural Populations of the Plant Pathogen *Melampsora lini*. *Mol Biol Evol* 26:2499–2513. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSP166>
- Basler M, Mekalanos JJ (2012) Type 6 Secretion Dynamics Within and Between Bacterial Cells. *Science* (80-) 337:815–815. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1222901>
- Bastedo DP, Khan M, Martel A, et al (2019) Perturbations of the ZED1 pseudokinase activate plant immunity. *PLOS Pathog* 15:e1007900. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1007900>
- Bauer Z, Gómez-Gómez L, Boller T, Felix G (2001) Sensitivity of Different Ecotypes and Mutants of *Arabidopsis thaliana* toward the Bacterial Elicitor Flagellin Correlates with the Presence of Receptor-binding Sites *. *J Biol Chem* 276:45669–45676. <https://doi.org/10.1074/JBC.M102390200>
- Bayer-Santos E, DeMoraes Ceseti L, Farah CS, et al (2019) Distribution, function and regulation of type 6 secretion systems of Xanthomonadales. *Front Microbiol* 10:1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01635>
- Bayer-Santos E, Lima L dos P, Ceseti L de M, et al (2018) *Xanthomonas citri* T6SS mediates resistance to *Dictyostelium* predation and is regulated by an ECF σ factor and cognate Ser/Thr kinase. *Environ Microbiol* 20:1562–1575. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14085>
- Bellafiore S, Briggs SP (2010) Nematode effectors and plant responses to infection. *Curr Opin Plant Biol* 13:442–448. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2010.05.006>
- Bernard GC, Egnin M, Bonsi C (2017) The Impact of Plant-Parasitic Nematodes on Agriculture and Methods of Control. *Nematol - Concepts, Diagnosis Control*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.68958>

- Bethke G, Pecher P, Eschen-Lippold L, et al (2012) Activation of the *Arabidopsis thaliana* Mitogen-Activated Protein Kinase MPK11 by the Flagellin-Derived Elicitor Peptide, flg22. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-11-11-0281> 25:471–480. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-11-0281>
- Bhasin H, Bhatia D, Raghuvanshi S, et al (2011) New PCR-based sequence-tagged site marker for bacterial blight resistance gene Xa38 of rice. *Mol Breed* 2011 301 30:607–611. <https://doi.org/10.1007/S11032-011-9646-Y>
- Bi G, Zhou Z, Wang W, et al (2018) Receptor-Like Cytoplasmic Kinases Directly Link Diverse Pattern Recognition Receptors to the Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase Cascades in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 30:1543–1561. <https://doi.org/10.1105/TPC.17.00981>
- Biezen EA Van Der, Jones JDG (1998) Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. *Trends Biochem Sci* 23:454–456. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(98\)01311-5](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(98)01311-5)
- Bigeard J, Colcombet J, Hirt H (2015) Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). *Mol Plant* 8:521–539. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.022>
- Bimolata W, Kumar A, Sundaram RM, et al (2013) Analysis of nucleotide diversity among alleles of the major bacterial blight resistance gene Xa27 in cultivars of rice (*Oryza sativa*) and its wild relatives. *Planta* 238:293–305. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1891-3>
- Boch J, Bonas U, Lahaye T (2014) TAL effectors - pathogen strategies and plant resistance engineering. *New Phytol* 204:823–832. <https://doi.org/10.1111/nph.13015>
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512. <https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bogdanove AJ, Voytas DF (2011) TAL effectors: Customizable proteins for DNA targeting. *Science* (80-) 333:1843–1846. <https://doi.org/10.1126/science.1204094>
- Bonas U (1994) *hrp* Genes of Phytopathogenic Bacteria. *Curr Top Microbiol Immunol* 192:79–96. https://doi.org/10.1007/978-3-642-78624-2_4
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Boutrot F, Zipfel C (2017) Function, Discovery, and Exploitation of Plant Pattern Recognition Receptors for Broad-Spectrum Disease Resistance. *Annu Rev Phytopathol* 55:257–286. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120106>
- Brar, Khush (1997) Wide hybridization for rice improvements : alien gene transfer and molecular characterization of introgression. *Interspecific Hybrid Prog Prospect WARDA* 21–29
- Brown I, Trethowan J, Kerry M, et al (1998) Localization of components of the oxidative cross-linking of glycoproteins and of callose synthesis in papillae formed during the interaction between non-pathogenic strains of *Xanthomonas campestris* and French bean mesophyll cells. *Plant J*

- Brown JKM (2015) Durable Resistance of Crops to Disease: A Darwinian Perspective. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045914> 53:513–539. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-102313-045914>
- Buddenhagen IW (1979) Bacterial blight found in Africa. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19801367355>. Accessed 14 Aug 2021
- Busungu C, Taura S, Sakagami J-II, Ichitani K (2016) Identification and linkage analysis of a new rice bacterial blight resistance gene from XM14, a mutant line from IR24. *Breed Sci* 66:636–645. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.16062>
- Busungu C, Taura S, Sakagami JI, et al (2018) High-resolution mapping and characterization of xa42, a resistance gene against multiple xanthomonas oryzae pv. Oryzae races in rice (oryza sativa l.). *Breed Sci* 68:188–199. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.17094>
- Büttner D, Bonas U (2002) Getting across—bacterial type III effector proteins on their way to the plant cell. *EMBO J* 21:5313–5322. <https://doi.org/10.1093/EMBOJ/CDF536>
- Byrum SD, Taverna SD, Tackett AJ (2013) Purification of a specific native genomic locus for proteomic analysis. *Nucleic Acids Res* 41:e195–e195. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT822>
- Calil IP, Fontes EPB (2017) Plant immunity against viruses: antiviral immune receptors in focus. *Ann Bot* 119:711–723. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCW200>
- Cascales E, Christie PJ (2003) The versatile bacterial type IV secretion systems. *Nat Rev Microbiol* 2003 12 1:137–149. <https://doi.org/10.1038/nrmicro753>
- Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- Cesari S, Bernoux M, Moncuquet P, et al (2014) A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: The “integrated decoy” hypothesis. *Front Plant Sci* 5:606. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00606>
- Césari S, Kanzaki H, Fujiwara T, et al (2014) The NB-LRR proteins RGA 4 and RGA 5 interact functionally and physically to confer disease resistance. *EMBO J* 33:1941–1959. <https://doi.org/10.15252/embj.201487923>
- Césari S, Thilliez G, Ribot C, et al (2013) The Rice Resistance Protein Pair RGA4/RGA5 Recognizes the Magnaporthe oryzae Effectors AVR-Pia and AVR1-CO39 by Direct Binding. *Plant Cell* 25:1463–1481. <https://doi.org/10.1105/TPC.112.107201>
- Chae E, Bomblies K, Kim ST, et al (2014) Species-wide Genetic Incompatibility Analysis Identifies Immune Genes as Hot Spots of Deleterious Epistasis. *Cell* 159:1341–1351. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.10.049>
- Chai HB, Doke N (1987) Activation of the potential of potato leaf tissue to react hypersensitively to *Phytophthora infestans* by cytosporic germination fluid and the enhancement of this potential by calcium ions. *Physiol Mol Plant Pathol* 30:27–37. [https://doi.org/10.1016/0885-5765\(87\)90080-4](https://doi.org/10.1016/0885-5765(87)90080-4)

- Cheema KK, Grewal NK, Vikal Y, et al (2008) A novel bacterial blight resistance gene from *Oryza nivara* mapped to 38 kb region on chromosome 4L and transferred to *Oryza sativa* L. *Genet Res (Camb)* 90:397–407. <https://doi.org/10.1017/S0016672308009786>
- Chen H, Xue L, Chintamanani S, et al (2009a) ETHYLENE INSENSITIVE3 and ETHYLENE INSENSITIVE3-LIKE1 Repress SALICYLIC ACID INDUCTION DEFICIENT2 Expression to Negatively Regulate Plant Innate Immunity in Arabidopsis. *Plant Cell* 21:2527–2540. <https://doi.org/10.1105/TPC.108.065193>
- Chen L-Q (2014) SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. *New Phytol* 201:1150–1155. <https://doi.org/10.1111/NPH.12445>
- Chen L-Q, Cheung LS, Feng L, et al (2015) Transport of Sugars. <http://dx.doi.org/101146/annurev-biochem-060614-033904> 84:865–894. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-BIOCHEM-060614-033904>
- Chen L-Q, Hou B-H, Lalonde S, et al (2010) Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nat* 2010 4687323 468:527–532. <https://doi.org/10.1038/nature09606>
- Chen S, Huang Z, Zeng L, et al (2008) High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae* resistance gene Xa7. *Mol Breed* 2008 223 22:433–441. <https://doi.org/10.1007/S11032-008-9187-1>
- Chen S, Liu X, Zeng L, et al (2011) Genetic analysis and molecular mapping of a novel recessive gene xa34(t) for resistance against *xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Theor Appl Genet* 122:1331–1338. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1534-7>
- Chen S, Wang C, Yang J, et al (2020) Identification of the novel bacterial blight resistance gene Xa46(t) by mapping and expression analysis of the rice mutant H120. *Sci Rep* 10:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69639-y>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chen X, Steed A, Travella S, et al (2009b) *Fusarium graminearum* exploits ethylene signalling to colonize dicotyledonous and monocotyledonous plants. *New Phytol* 182:975–983. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2009.02821.X>
- Chen X, Zuo S, Schwessinger B, et al (2014) An XA21-associated kinase (OsSERK2) regulates immunity mediated by the XA21 and XA3 immune receptors. *Mol Plant* 7:874–892. <https://doi.org/10.1093/MP/SSU003>
- Cheng H, Liu H, Deng Y, et al (2015) The WRKY45-2 WRKY13 WRKY42 transcriptional regulatory cascade is required for rice resistance to fungal pathogen. *Plant Physiol* 167:1087–1099. <https://doi.org/10.1104/PP.114.256016>
- Cheong H, Kim C-Y, Jeon J-S, et al (2013) *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Type III Effector XopN Targets OsVOZ2 and a Putative Thiamine Synthase as a Virulence Factor in Rice. *PLoS One* 8:e73346. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0073346>

- Chinchilla D, Zipfel C, Robatzek S, et al (2007) A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nat* 2007 448:497–500.
<https://doi.org/10.1038/nature05999>
- Chong J, Piron M-C, Meyer S, et al (2014) The SWEET family of sugar transporters in grapevine: VvSWEET4 is involved in the interaction with *Botrytis cinerea*. *J Exp Bot* 65:6589–6601.
<https://doi.org/10.1093/JXB/ERU375>
- Chou FL, Chou HC, Lin YS, et al (1997) The *Xanthomonas campestris* gumD Gene Required for Synthesis of Xanthan Gum Is Involved in Normal Pigmentation and Virulence in Causing Black Rot. *Biochem Biophys Res Commun* 233:265–269.
<https://doi.org/10.1006/BBRC.1997.6365>
- Christian M, Cermak T, Doyle EL, et al (2010) Targeting DNA Double-Strand Breaks with TAL Effector Nucleases. *Genetics* 186:757–761. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.110.120717>
- Chukwu SC, Rafii · M Y, Ramlee · S I, et al (2019) Bacterial leaf blight resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approach. *Mol Biol Rep* 46:1519–1532.
<https://doi.org/10.1007/s11033-019-04584-2>
- Chung EH, Da Cunha L, Wu AJ, et al (2011) Specific Threonine Phosphorylation of a Host Target by Two Unrelated Type III Effectors Activates a Host Innate Immune Receptor in Plants. *Cell Host Microbe* 9:125–136. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2011.01.009>
- Cianciotto NP, White RC (2017) Expanding role of type II secretion in bacterial pathogenesis and beyond. *Infect Immun* 85:. <https://doi.org/10.1128/IAI.00014-17>
- Cianfanelli FR, Monlezun L, Coulthurst SJ (2016) Aim, Load, Fire: The Type VI Secretion System, a Bacterial Nanoweapon. *Trends Microbiol* 24:51–62.
<https://doi.org/10.1016/J.TIM.2015.10.005>
- Civán P, Craig H, Cox CJ, Brown TA (2015) Three geographically separate domestications of Asian rice. *Nat Plants* 1:15164. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.164>
- Cohn M, Bart RS, Shybut M, et al (2014) *Xanthomonas axonopodis* Virulence Is Promoted by a Transcription Activator-Like Effector–Mediated Induction of a SWEET Sugar Transporter in Cassava. <http://dx.doi.org/101094/MPMI-06-14-0161-R> 27:1186–1198.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-06-14-0161-R>
- Cox KL, Meng F, Wilkins KE, et al (2017) TAL effector driven induction of a SWEET gene confers susceptibility to bacterial blight of cotton. *Nat Commun* 8:15588.
<https://doi.org/10.1038/ncomms15588>
- Cruz RP da, Sperotto RA, Cargnelutti D, et al (2013) Avoiding damage and achieving cold tolerance in rice plants. *Food Energy Secur* 2:96–119. <https://doi.org/10.1002/FES3.25>
- Cunningham F, Amode MR, Barrell D, et al (2015) Ensembl 2015. *Nucleic Acids Res* 43:D662–D669. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1010>

- da Silva ACR, Ferro JA, Reinach FC, et al (2002) Comparison of the genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities. *Nat* 2002 4176887 417:459–463. <https://doi.org/10.1038/417459a>
- Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ (2013) Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* (80-) 341:746–751. <https://doi.org/10.1126/science.1236011>
- Dangl JL, Jones JDG (2001) Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411:826–833. <https://doi.org/10.1038/35081161>
- Dar AA, Mahajan R, Sharma S (2019) Molecular markers for characterization and conservation of plant genetic resources Characterisation of common bean germplasm View project. *Artic Indian J Agric Sci*
- Darsonval A, Darrasse A, Durand K, et al (2009) Adhesion and Fitness in the Bean Phyllosphere and Transmission to Seed of *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans*. <http://dx.doi.org/101094/MPMI-22-6-0747> 22:747–757. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-6-0747>
- Das A, Rangaraj N, Sonti R V. (2008) Multiple Adhesin-Like Functions of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Are Involved in Promoting Leaf Attachment, Entry, and Virulence on Rice. <http://dx.doi.org/101094/MPMI-22-1-0073> 22:73–85. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-1-0073>
- De La Concepcion JC, Franceschetti M, Maclean D, et al (2019) Protein engineering expands the effector recognition profile of a rice NLR immune receptor. *Elife* 8:. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.47713>
- De Lange O, Binder A, Lahaye T (2014) From dead leaf, to new life: TAL effectors as tools for synthetic biology. *Plant J* 78:753–771. <https://doi.org/10.1111/tpj.12431>
- De Vleeschauwer D, Xu J, Höfte M (2014) Making sense of hormone-mediated defense networking: from rice to *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 0:611. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00611>
- Deng D, Yan C, Pan X, et al (2012a) Structural Basis for Sequence-Specific Recognition of DNA by TAL Effectors. *Science* (80-) 335:720–723. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1215670>
- Deng H, Liu H, Li X, et al (2012b) A CCCH-type zinc finger nucleic acid-binding protein quantitatively confers resistance against rice bacterial blight disease. *Plant Physiol* 158:876–889. <https://doi.org/10.1104/PP.111.191379>
- Deng W, Marshall NC, Rowland JL, et al (2017) Assembly, structure, function and regulation of type III secretion systems. *Nat Rev Microbiol* 15:323–337. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.20>
- Denoux C, Galletti R, Mammarella N, et al (2008) Activation of defense response pathways by OGs and Flg22 elicitors in *Arabidopsis* seedlings. *Mol Plant* 1:423–445. <https://doi.org/10.1093/mp/ssn019>

- Dharmapuri S, Sonti R V. (1999) A transposon insertion in the gumG homologue of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causes loss of extracellular polysaccharide production and virulence. *FEMS Microbiol Lett* 179:53–59. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6968.1999.TB08707.X>
- Diallo MA, Zougrana MS, Sawadogo PM, et al (2021) First report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* in Ivory Coast. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0811-PDN>. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0811-PDN>
- Djedatin G, Ndjioudjop M-NN, Sanni A, et al (2016) Identification of novel major and minor QTLs associated with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (African strains) resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice* 9:1–10. <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0090-9>
- Dodds PN, Rathjen JP (2010) Plant immunity: Towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nat Rev Genet* 11:539–548. <https://doi.org/10.1038/nrg2812>
- Dong S, Stam R, Cano LM, et al (2014) Effector Specialization in a Lineage of the Irish Potato Famine Pathogen. *Science* (80-) 343:552–555. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1246300>
- Doucouré H, Pérez-Quintero AL, Reshetnyak G, et al (2018) Functional and genome sequence-driven characterization of tal effector gene repertoires reveals novel variants with altered specificities in closely related malian *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains. *Front Microbiol* 9:1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01657>
- Dow JM, Crossman L, Findlay K, et al (2003) Biofilm dispersal in *Xanthomonas campestris* is controlled by cell–cell signaling and is required for full virulence to plants. *Proc Natl Acad Sci* 100:10995–11000. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1833360100>
- Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT) 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122. <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>
- Drobnak I, Braselmann E, Chaney JL, et al (2015) Of linkers and autochaperones: an unambiguous nomenclature to identify common and uncommon themes for autotransporter secretion. *Mol Microbiol* 95:1–16. <https://doi.org/10.1111/MMI.12838>
- Droc G, Ruiz M, Larmande P, et al (2006) OryGenesDB: a database for rice reverse genetics. *Nucleic Acids Res* 34:D736–D740. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj012>
- Duan S, Jia H, Pang Z, et al (2018) Functional characterization of the citrus canker susceptibility gene CsLOB1. *Mol Plant Pathol* 19:1908–1916. <https://doi.org/10.1111/MPP.12667>
- Dunger G, Relling VM, Tondo ML, et al (2007) Xanthan is not essential for pathogenicity in citrus canker but contributes to *Xanthomonas epiphytic* survival. *Arch Microbiol* 2007 1882 188:127–135. <https://doi.org/10.1007/S00203-007-0227-8>
- Duxbury Z, Wu CH, Ding P (2021) A Comparative Overview of the Intracellular Guardians of Plants and Animals: NLRs in Innate Immunity and Beyond. *Annu Rev Plant Biol* 72:155–184. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-080620-104948>

- Edwards MD, Stuber CW, Wendel JF (1987) Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize. I. Numbers, genomic distribution and types of gene action. *Genetics* 116:113–125. <https://doi.org/10.1093/genetics/116.1.113>
- El Kasmi F, Horvath D, Lahaye T (2018) Microbial effectors and the role of water and sugar in the infection battle ground. *Curr Opin Plant Biol* 44:98–107. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2018.02.011>
- Ellis J, Jones D (1998) Structure and function of proteins controlling strain-specific pathogen resistance in plants. *Curr Opin Plant Biol* 1:288–293. [https://doi.org/10.1016/1369-5266\(88\)80048-7](https://doi.org/10.1016/1369-5266(88)80048-7)
- Eom J-S, Chen L-Q, Sosso D, et al (2015) SWEETs, transporters for intracellular and intercellular sugar translocation. *Curr Opin Plant Biol* 25:53–62. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.04.005>
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2019) PrediTALe: A novel model learned from quantitative data allows for new perspectives on TALE targeting. *Public Library of Science*
- Erkes A, Reschke M, Boch J, Grau J (2017) Evolution of transcription activator-like effectors in *Xanthomonas oryzae*. *Genome Biol Evol* 9:1599–1699. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx108>
- Escalon A, Javegny S, Vernière C, 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. <https://doi.org/10.1111/MPP.12019>
- Eshed Y, Zamir D (1995) An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL. *Genetics* 141:1147–1162. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/141.3.1147>
- Fang C -t., Ken H -c., Chen T -y., et al (1957) A comparison of the Rice bacterial leaf blight organism with the bacterial leaf streak organisms of Rice and *Leersia hexandra* Swartz. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19581101830>. Accessed 14 Aug 2021
- Feng CY, Han JX, Han XX, Jiang J (2015) Genome-wide identification, phylogeny, and expression analysis of the SWEET gene family in tomato. *Gene* 573:261–272. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2015.07.055>
- Feng F, Yang F, Rong W, et al (2012) A *Xanthomonas* uridine 5'-monophosphate transferase inhibits plant immune kinases. *Nat* 2012 4857396 485:114–118. <https://doi.org/10.1038/nature10962>
- Ferreira RM, de Oliveira ACP, Moreira LM, et al (2015) A TALE of Transposition: Tn3-like transposons play a major role in the spread of pathogenicity determinants of *xanthomonas citri* and other *xanthomonads*. *MBio* 6:. <https://doi.org/10.1128/MBIO.02505-14>
- Fine EJ, Cradick TJ, Zhao CL, et al (2014) An online bioinformatics tool predicts zinc finger and TALE nuclease off-target cleavage. *Nucleic Acids Res* 42:e42–e42. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1326>
- Flor HH (1971) Current status of the gene-fob-gene concept. 275–296

- Foley JA, Ramankutty N, Brauman KA, et al (2011) Solutions for a cultivated planet. *Nat* 2011 478:337–342. <https://doi.org/10.1038/nature10452>
- Fu J, Liu H, Li Y, et al (2011) Manipulating Broad-Spectrum Disease Resistance by Suppressing Pathogen-Induced Auxin Accumulation in Rice. *Plant Physiol* 155:589–602. <https://doi.org/10.1104/PP.110.163774>
- Fu ZQ, Dong X (2013) Systemic Acquired Resistance: Turning Local Infection into Global Defense. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105606> 64:839–863. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ARPLANT-042811-105606>
- Fujita T, Asano Y, Ohtsuka J, et al (2013) Identification of telomere-associated molecules by engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation (enChIP). *Sci Reports* 2013 31 3:1–7. <https://doi.org/10.1038/srep03171>
- Fuller DQ (2007) Contrasting Patterns in Crop Domestication and Domestication Rates: Recent Archaeobotanical Insights from the Old World. *Ann Bot* 100:903–924. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCM048>
- Gaffney T, Friedrich L, Vernooij B, et al (1993) Requirement of Salicylic Acid for the Induction of Systemic Acquired Resistance. *Science* (80-) 261:754–756. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.261.5122.754>
- Gaige AR, Ayella A, Shuai B (2010) Methyl jasmonate and ethylene induce partial resistance in *Medicago truncatula* against the charcoal rot pathogen *Macrophomina phaseolina*. *Physiol Mol Plant Pathol* 74:412–418. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2010.07.001>
- Gao Q, Kachroo A, Kachroo P (2014) Chemical inducers of systemic immunity in plants. *J Exp Bot* 65:1849–1855. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU010>
- Garavito A, Guyot R, Lozano J, et al (2010) A Genetic Model for the Female Sterility Barrier Between Asian and African Cultivated Rice Species. *Genetics* 185:1425–1440. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.110.116772>
- Garg AK, Kim J-K, Owens TG, et al (2002) Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proc Natl Acad Sci* 99:15898–15903. <https://doi.org/10.1073/PNAS.252637799>
- Garita-Cambronero J, Palacio-Bielsa A, López MM, Cubero J (2017) Pan-Genomic Analysis Permits Differentiation of Virulent and Non-virulent Strains of *Xanthomonas arboricola* That Cohabit *Prunus* spp. and Elucidate Bacterial Virulence Factors. *Front Microbiol* 0:573. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.00573>
- Garris AJ, Tai TH, Coburn J, et al (2005) Genetic Structure and Diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* 169:1631–1638. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.035642>
- Gerlach RG, Hensel M (2007) Protein secretion systems and adhesins: The molecular armory of Gram-negative pathogens. *Int J Med Microbiol* 297:401–415. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.03.017>

- Glazebrook J (2005) Contrasting Mechanisms of Defense Against Biotrophic and Necrotrophic Pathogens. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto43040204135923> 43:205–227. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.43.040204.135923>
- Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, et al (2010) Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science* (80-) 327:812–818. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1185383>
- Goff SA, Ricke D, Lan T-H, et al (2002) A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science* (80-) 296:92–100. <https://doi.org/10.1126/science.1068275>
- Gómez-Gómez L, 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. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(00\)80265-8](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)80265-8)
- Gómez-Gómez L, Felix G, Boller T (1999) A single locus determines sensitivity to bacterial flagellin in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 18:277–284. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.00451.x>
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>
- Gonzalez CF (1991) *Leersia hexandra*, an Alternative Host for *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in Texas . *Plant Dis* 75:159. <https://doi.org/10.1094/PD-75-0159>
- González VM, Müller S, Baulcombe D, Puigdomènech P (2015) Evolution of NBS-LRR Gene Copies among Dicot Plants and its Regulation by Members of the miR482/2118 Superfamily of miRNAs. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.013>
- Goodner B, Hinkle G, Gattung S, et al (2001) Genome Sequence of the Plant Pathogen and Biotechnology Agent *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* (80-) 294:2323–2328. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1066803>
- Gordon JL, Lefeuvre P, Escalon A, et al (2015) Comparative genomics of 43 strains of *Xanthomonas citri* pv. *citri* reveals the evolutionary events giving rise to pathotypes with different host ranges. *BMC Genomics* 2015 16:1–20. <https://doi.org/10.1186/S12864-015-2310-X>
- Goto F, Yoshihara T, Shigemoto N, et al (1999) Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene. *Nat Biotechnol* 17:282–286. <https://doi.org/10.1038/7029>
- Goto M (1992) *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. 365
- Goto T, MATSUMOTO T, FURUYA N, et al (2009) Mapping of Bacterial Blight Resistance Gene Xa11 on Rice Chromosome 3. *Japan Agric Res Q JARQ* 43:221–225. <https://doi.org/10.6090/JARQ.43.221>
- Gottig N, Garavaglia BS, Garofalo CG, et al (2009) A Filamentous Hemagglutinin-Like Protein of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, the Phytopathogen Responsible for Citrus Canker, Is Involved in Bacterial Virulence. *PLoS One* 4:e4358. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0004358>

- Grant M, Brown I, Adams S, et al (2000) The RPM1 plant disease resistance gene facilitates a rapid and sustained increase in cytosolic calcium that is necessary for the oxidative burst and hypersensitive cell death. *Plant J* 23:441–450. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2000.00804.x>
- Grant M, Lamb C (2006) Systemic immunity. *Curr Opin Plant Biol* 9:414–420. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2006.05.013>
- Grau J, Boch J, Posch S (2013a) TALENoffer: genome-wide TALEN off-target prediction. *Bioinformatics* 29:2931–2932. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTT501>
- Grau J, Keilwagen J, Posch S, Grosse I (2012) Jstacs: A Java Framework for Statistical Analysis and Classification of Biological Sequences André Gohr Berit Haldemann. *J Mach Learn Res* 13:1967–1971
- Grau J, Wolf A, Reschke M, et al (2013b) Computational Predictions Provide Insights into the Biology of TAL Effector Target Sites. *PLOS Comput Biol* 9:e1002962. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1002962>
- Greenberg JT, Yao N (2004) The role of regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cell Microbiol* 6:201–211. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2004.00361.x>
- Grellet-Bournonville CF, Martinez-Zamora MG, Castagnaro AP, Díaz-Ricci JC (2012) Temporal accumulation of salicylic acid activates the defense response against *Colletotrichum* in strawberry. *Plant Physiol Biochem* 54:10–16. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2012.01.019>
- Griebel T, Maekawa T, Parker JE (2014) NOD-like receptor cooperativity in effector-triggered immunity. *Trends Immunol* 35:562–570. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2014.09.005>
- Gross BL, Zhao Z (2014) Archaeological and genetic insights into the origins of domesticated rice. *Proc Natl Acad Sci* 111:6190–6197. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1308942110>
- Gu K, Sangha JS, Li Y, Yin Z (2008) High-resolution genetic mapping of bacterial blight resistance gene Xa10. *Theor Appl Genet* 116:155–163. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0655-5>
- Gu K, Tian D, Qiu C, Yin Z (2009) Transcription activator-like type III effector avrxa27 depends on ostfiiay5 for the activation of Xa27 transcription in rice that triggers disease resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*: Short communication. *Mol Plant Pathol* 10:829–835. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00567.x>
- Gu K, Tian D, Yang F, et al (2004) High-resolution genetic mapping of Xa27(t), a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 108:800–807. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1491-x>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Guo S, Zhang D, Lin X (2010) Identification and Mapping of a Novel Bacterial Blight Resistance. *Sci Agric Sin* 43:2611–2618

- Gururani MA, Venkatesh J, Upadhyaya CP, et al (2012) Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiol Mol Plant Pathol* 78:51–65. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2012.01.002>
- Gutterson N, Reuber TL (2004) Regulation of disease resistance pathways by AP2/ERF transcription factors. *Curr Opin Plant Biol* 7:465–471. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.04.007>
- H. Gridley MJ and MW-P (2002) Development of new rice for Africa (NERICA) and participatory varietal selection. In: *Breeding rainfed rice for drought -prone environment: interacting conventional and participatory plant breeding in South and Southeast Asia. Proceedings of a DFID plant sciences research programme/IRRI conference.* pp 23–28
- Hachani A, Wood TE, Filloux A (2016) Type VI secretion and anti-host effectors. *Curr Opin Microbiol* 29:81–93. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2015.11.006>
- Halim VA, Eschen-Lippold L, Altmann S, et al (2007) Salicylic acid is important for basal defense of *Solanum tuberosum* Against *Phytophthora infestans*. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:1346–1352. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-11-1346>
- Hamann T (2012) Plant cell wall integrity maintenance as an essential component of biotic stress response mechanisms. *Front Plant Sci* 0:77. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2012.00077>
- Han J, Xia Z, Liu P, et al (2020) TALEN-based editing of TFIIA5 changes rice response to *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *Sci Reports* 2020 10:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59052-w>
- Hann DR, Rathjen JP (2007) Early events in the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* on *Nicotiana benthamiana*. *Plant J* 49:607–618. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02981.x>
- Hayafune M, Berisio R, Marchetti R, et al (2014) Chitin-induced activation of immune signaling by the rice receptor CEBiP relies on a unique sandwich-type dimerization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E404–E413. <https://doi.org/10.1073/pnas.1312099111>
- He Q, Li D, Zhu Y, et al (2006) Fine Mapping of Xa2, a Bacterial Blight Resistance Gene in Rice. *Mol Breed* 2006 17:1–6. <https://doi.org/10.1007/S11032-005-8698-2>
- Hébrard E, Froissart R, Louis C, Blanc S (1999) Les modes de transmission des virus phytopathogènes par vecteurs. *Virologie* 3:35–48
- Heigwer F, Kerr G, Walther N, et al (2013) E-TALEN: a web tool to design TALENs for genome engineering. *Nucleic Acids Res* 41:e190–e190. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT789>
- Helliwell EE, Wang Q, Yang Y (2013) Transgenic rice with inducible ethylene production exhibits broad-spectrum disease resistance to the fungal pathogens *Magnaporthe oryzae* and *Rhizoctonia solani*. *Plant Biotechnol J* 11:33–42. <https://doi.org/10.1111/PBI.12004>
- Hirabayashi H, Sasaki K, Kambe T, et al (2015) qEMF3, a novel QTL for the early-morning flowering trait from wild rice, *Oryza officinalis*, to mitigate heat stress damage at flowering in rice, *O. sativa*. *J Exp Bot* 66:1227–1236. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU474>

- Hoffman T, Schmidt JS, Zheng X, Bent AF (1999) Isolation of Ethylene-Insensitive Soybean Mutants That Are Altered in Pathogen Susceptibility and Gene-for-Gene Disease Resistance. *Plant Physiol* 119:935–950. <https://doi.org/10.1104/PP.119.3.935>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Howe GA, Jander G (2008) Plant Immunity to Insect Herbivores. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant59032607092825> 59:41–66. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.ARPLANT.59.032607.092825>
- Hsu PD, Scott DA, Weinstein JA, et al (2013) DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. *Nat Biotechnol* 2013 319 31:827–832. <https://doi.org/10.1038/nbt.2647>
- Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>
- Hu M, Qi J, Bi G, Zhou JM (2020) Bacterial Effectors Induce Oligomerization of Immune Receptor ZAR1 In Vivo. *Mol Plant* 13:793–801. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2020.03.004>
- Hu Y, Duan S, Zhang Y, et al (2016) Temporal Transcription Profiling of Sweet Orange in Response to PthA4-Mediated *Xanthomonas citri* subsp. *citri* Infection. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0201-R> 106:442–451. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0201-R>
- Hu Y, Zhang J, Jia H, et al (2014) Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E521–E529. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313271111>
- Huang L, Brooks S, Li W, et al (2009) Evolution of New Disease Specificity at a Simple Resistance Locus in a Crop–Weed Complex: Reconstitution of the Lr21 Gene in Wheat. *Genetics* 182:595–602. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.099614>
- Huang N, Angeles ER, Domingo J, et al (1997) Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker-assisted selection using RFLP and PCR. *Theor Appl Genet* 1997 953 95:313–320. <https://doi.org/10.1007/S001220050565>
- Huang R, Hui S, Zhang M, et al (2017) A Conserved Basal Transcription Factor Is Required for the Function of Diverse TAL Effectors in Multiple Plant Hosts. *Front Plant Sci* 0:1919. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2017.01919>
- Huang X, Kurata N, Wei X, et al (2012) A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature* 490:497–501. <https://doi.org/10.1038/nature11532>
- Huerta AI, Delorean EE, Bossa-Castro AM, et al (2021) Resistance and susceptibility QTL identified in a rice MAGIC population by screening with a minor-effect virulence factor from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Biotechnol J* 19:51–63. <https://doi.org/10.1111/pbi.13438>

- Huffaker A, Pearce G, Ryan CA (2006) An endogenous peptide signal in *Arabidopsis* activates components of the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10098–10103. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603727103>
- Hui S, Liu H, Zhang M, 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. <https://doi.org/10.1016/J.PLANTSCI.2019.04.004>
- Hui S, Shi Y, Tian J, et al (2019b) TALE carrying bacterial pathogens trap host nuclear import receptors for facilitation of infection of rice. *Mol Plant Pathol* 20:519–532. <https://doi.org/10.1111/mpp.12772>
- Hung CH, Wu HC, Tseng YH (2002) Mutation in the *Xanthomonas campestris* xanA Gene Required for Synthesis of Xanthan and Lipopolysaccharide Drastically Reduces the Efficiency of Bacteriophage ϕ L7 Adsorption. *Biochem Biophys Res Commun* 291:338–343. <https://doi.org/10.1006/BBRC.2002.6440>
- Hutin M, Pérez-Quintero AL, Lopez C, Szurek B (2015a) MorTAL KomBAT: the story of defense against TAL effectors through loss-of-susceptibility. *Front Plant Sci* 6:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00535>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015b) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Ichimura K, Shinozaki K, Tena G, et al (2002) Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci* 7:301–308. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02302-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02302-6)
- Iriti M, Faoro F (2009) Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. *Plant Signal Behav* 4:66–68. <https://doi.org/10.4161/psb.4.1.7408>
- Iriti M, Varoni EM (2014) Chitosan-induced antiviral activity and innate immunity in plants. *Environ Sci Pollut Res* 2014 224 22:2935–2944. <https://doi.org/10.1007/S11356-014-3571-7>
- Ishikawa K, Yamaguchi K, Sakamoto K, et al (2014) Bacterial effector modulation of host E3 ligase activity suppresses PAMP-triggered immunity in rice. *Nat Commun* 2014 51 5:1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms6430>
- Ishiyama, S. 1922. Studies of bacterial leaf blight of rice. *Rep. Imp. Agric. Stn. Konosu* 45233-261
- Iyer AS, McCouch SR (2007) The Rice Bacterial Blight Resistance Gene xa5 Encodes a Novel Form of Disease Resistance. <http://dx.doi.org/101094/MPMI200417121348> 17:1348–1354. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.12.1348>
- Jackson MT (1995) Protecting the heritage of rice biodiversity. *GeoJournal* 35:267–274. <https://doi.org/10.1007/BF00989134>
- Jacob F, Vernaldi S, Maekawa T (2013) Evolution and Conservation of Plant NLR Functions. *Front Immunol* 0:297. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2013.00297>

- Jacobs JM, Pesce C, Lefeuvre P, Koebnik R (2015) Comparative genomics of a cannabis pathogen reveals insight into the evolution of pathogenicity in *Xanthomonas*. *Front Plant Sci* 0:431. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00431>
- Jacquemin J, Bhatia D, Singh K, Wing RA (2013) The International Oryza Map Alignment Project: development of a genus-wide comparative genomics platform to help solve the 9 billion-people question. *Curr Opin Plant Biol* 16:147–156. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.014>
- Jacques M-A, Arlat M, Boulanger A, et al (2016) Using Ecology, Physiology, and Genomics to Understand Host Specificity in *Xanthomonas*. *Annu Rev Phytopathol* 54:163–187. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100147>
- Jaiswal P, Ni J, Yap I, et al (2006) Gramene: a bird's eye view of cereal genomes. *Nucleic Acids Res* 34:D717–D723. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj154>
- Jansen RC, Stam P (1994) High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136:1447–1455. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/136.4.1447>
- Jehle AK, Lipschis M, Albert M, et al (2013) The Receptor-Like Protein ReMAX of *Arabidopsis* Detects the Microbe-Associated Molecular Pattern eMax from *Xanthomonas*. *Plant Cell* 25:2330–2340. <https://doi.org/10.1105/TPC.113.110833>
- Jena KK, Kim SM, Suh JP, et al (2012) Identification of Cold-Tolerant Breeding Lines by Quantitative Trait Loci Associated with Cold Tolerance in Rice. *Crop Sci* 52:517–523. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI2010.12.0733>
- Jeworutzki E, Roelfsema MRG, Anshütz U, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2010.04155.X>
- Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Jia Y, McAdams SA, Bryan GT, et al (2000) Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. *EMBO J* 19:4004–4014. <https://doi.org/10.1093/EMBOJ/19.15.4004>
- Jiang GH, Xia ZH, Zhou YL, et al (2006) Testifying the rice bacterial blight resistance gene xa5 by genetic complementation and further analyzing xa5 (Xa5) in comparison with its homolog TFIIAγ1. *Mol Genet Genomics* 275:354–366. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0091-7>
- Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al (2012) A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science* (80-) 337:816–821. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1225829>

- Jisha V, Dampanaboina L, Vadassery J, et al (2015) Overexpression of an AP2/ERF Type Transcription Factor OsERE1BP1 Confers Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Rice. *PLoS One* 10:e0127831. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127831>
- Johnson WC, Menéndez C, Nodari R, et al (1996) Association of a seed weight factor with the phaseolin seed storage protein locus across genotypes, environments, and genomes in *Phaseolus-Vigna* spp.: Sax (1923) revisited. *J Agric Genomics* 2:1–19
- Jones DA, Thomas CM, Hammond-Kosack KE, et al (1994) Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science* (80-) 266:789–793. <https://doi.org/10.1126/science.7973631>
- Jones JDG, Dangl JL (2006) The plant immune system. *Nature* 444:323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Jones MP, Jeutong F, Tchatchoua J (1991) Diseases of rice in Cameroon. *Int Rice Res Newsl* 16:19–20
- Jones RK (1989) Identification of Low-Virulence Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* from Rice in the United States . *Phytopathology* 79:984. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-79-984>
- Joosten MHAAJ, De Wit PJGM (1999) The tomato-*Cladosporium fulvum* interaction: A versatile experimental system to study plant-pathogen interactions. *Annu Rev Phytopathol* 37:335–367. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.37.1.335>
- Jung KH, An G, Ronald PC (2008) Towards a better bowl of rice: Assigning function to tens of thousands of rice genes. *Nat Rev Genet* 9:91–101. <https://doi.org/10.1038/nrg2286>
- Kachroo A, Robin GP (2013) Systemic signaling during plant defense. *Curr Opin Plant Biol* 16:527–533. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2013.06.019>
- Kadota Y, Liebrand TWH, Goto Y, et al (2019) Quantitative phosphoproteomic analysis reveals common regulatory mechanisms between effector- and PAMP-triggered immunity in plants. *New Phytol* 221:2160–2175. <https://doi.org/10.1111/NPH.15523>
- Kadota Y, Sklenar J, Derbyshire P, et al (2014) Direct Regulation of the NADPH Oxidase RBOHD by the PRR-Associated Kinase BIK1 during Plant Immunity. *Mol Cell* 54:43–55. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2014.02.021>
- Kao CH, Zeng ZB, Teasdale RD (1999) Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics* 152:1203–1216. <https://doi.org/10.1093/genetics/152.3.1203>
- Katzen F, Ferreira DU, Oddo CG, et al (1998) *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* gum mutants: Effects on xanthan biosynthesis and plant virulence. *J Bacteriol* 180:1607–1617. <https://doi.org/10.1128/JB.180.7.1607-1617.1998>
- Kawahara Y, de la Bastide M, Hamilton JP, et al (2013) Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. *Rice* 6:4. <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-4>

- Kay S, Hahn S, Marois E, et al (2007) A Bacterial Effector Acts as a Plant Transcription Factor and Induces a Cell Size Regulator. *Science* (80-) 318:648–651. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1144956>
- Kemp BP, Horne J, Bryant A, Cooper RM (2004) *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* gumD gene is essential for EPS production and pathogenicity and enhances epiphytic survival on cassava (*Manihot esculenta*). *Physiol Mol Plant Pathol* 64:209–218. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2004.08.007>
- Kersey PJ, Allen JE, Armean I, et al (2016) Ensembl Genomes 2016: More genomes, more complexity. *Nucleic Acids Res* 44:D574–D580. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1209>
- Kim DS, Hwang BK (2014) An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (PAL1) in salicylic acid-dependent signalling of the defence response to microbial pathogens. *J Exp Bot* 65:2295–2306. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERU109>
- Kim J-G, Li X, Roden JA, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.063123>
- Kim JG, Stork W, Mudgett MB (2013) *Xanthomonas* type III effector XopD desumoylates tomato transcription factor SlERF4 to suppress ethylene responses and promote pathogen growth. *Cell Host Microbe* 13:143–154. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.01.006>
- Kim JG, Taylor KW, Hotson A, et al (2008) XopD SUMO protease affects host transcription, promotes pathogen growth, and delays symptom development in *Xanthomonas*-infected tomato leaves. *Plant Cell* 20:1915–1929. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.058529>
- Kim S, Park J, Yeom S-I, et al (2017) New reference genome sequences of hot pepper reveal the massive evolution of plant disease-resistance genes by retroduplication. *Genome Biol* 2017 18:1–11. <https://doi.org/10.1186/S13059-017-1341-9>
- Kimura S, Hunter K, Vaahera L, et al (2020) CRK2 and C-terminal Phosphorylation of NADPH Oxidase RBOHD Regulate Reactive Oxygen Species Production in Arabidopsis. *Plant Cell* 32:1063–1080. <https://doi.org/10.1105/TPC.19.00525>
- Kim S-M, Suh J-P, Qin Y, et al (2015) Identification and fine-mapping of a new resistance gene, Xa40, conferring resistance to bacterial blight races in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 2015 128:1933–1943. <https://doi.org/10.1007/S00122-015-2557-2>
- Kim SM (2018) Identification of novel recessive gene xa44(t) conferring resistance to bacterial blight races in rice by QTL linkage analysis using an SNP chip. *Theor Appl Genet* 131:2733–2743. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3187-2>
- Kim SM, Reinke RF (2019) A novel resistance gene for bacterial blight in rice, Xa43(t) identified by GWAS, confirmed by QTL mapping using a bi-parental population. *PLoS One* 14:1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211775>
- Klauser T, Pohlner J, Meyer TF (1993) The secretion pathway of IgA protease-type proteins in gram-negative bacteria. *BioEssays* 15:799–805. <https://doi.org/10.1002/BIES.950151205>

- Koch B, Callaghan MM, Tellechea-Luzardo J, et al (2020) Protein interactions within and between two F-type type IV secretion systems. *Mol Microbiol* 114:823–838. <https://doi.org/10.1111/MMI.14582>
- Kong J, Wei M, Li G, et al (2018) The cucumber mosaic virus movement protein suppresses PAMP-triggered immune responses in Arabidopsis and tobacco. *Biochem Biophys Res Commun* 498:395–401. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2018.01.072>
- Kørner CJ, Klauser D, Niehl A, et al (2013) The Immunity Regulator BAK1 Contributes to Resistance Against Diverse RNA Viruses. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-06-13-0179-R> 26:1271–1280. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-13-0179-R>
- Krannich CT, Maletzki L, Kurowsky C, Horn R (2015) Network Candidate Genes in Breeding for Drought Tolerant Crops. *Int J Mol Sci* 2015, Vol 16, Pages 16378-16400 16:16378–16400. <https://doi.org/10.3390/IJMS160716378>
- Krasileva K V., Dahlbeck D, Staskawicz BJ (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. <https://doi.org/10.1105/TPC.110.075358>
- Krattinger SG, Keller B (2016) Molecular genetics and evolution of disease resistance in cereals. *New Phytol* 212:320–332. <https://doi.org/10.1111/NPH.14097>
- Krol E, Mentzel T, Chinchilla D, et al (2010) Perception of the Arabidopsis danger signal peptide 1 involves the pattern recognition receptor AtPEPR1 and its close homologue AtPEPR2. *J Biol Chem* 285:13471–13479. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.097394>
- Kumar R, Soni M, Mondal KK (2016) XopN-T3SS effector of *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* localizes to the plasma membrane and modulates ROS accumulation events during blight pathogenesis in pomegranate. *Microbiol Res* 193:111–120. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.10.001>
- Kunze G, Zipfel C, Robatzek S, et al (2004) The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in Arabidopsis plants. *Plant Cell* 16:3496–3507. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.026765>
- Kurata N, Yamazaki Y (2006) Oryzabase. An integrated biological and genome information database for rice. *Plant Physiol* 140:12–17. <https://doi.org/10.1104/pp.105.063008>
- Laflamme B, Dillon MM, Martel A, et al (2020) The pan-genome effector-triggered immunity landscape of a host-pathogen interaction. *Science* (80-) 367:763–768. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAX4079>
- Lambert K, Bekal S (2002) Introduction to Plant-Parasitic Nematodes. *Plant Heal Instr.* <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2002-1218-01>
- Lander ES, Botstein S (1989) Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121:185. <https://doi.org/10.1093/genetics/121.1.185>

- Lang JM, Pérez-Quintero AL, Koebnik R, et al (2019) A pathovar of *Xanthomonas oryzae* infecting wild grasses provides insight into the evolution of pathogenicity in rice agroecosystems. *Front Plant Sci* 10:507. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00507>
- Le Roux C, Huet G, Jauneau A, et al (2015) A Receptor Pair with an Integrated Decoy Converts Pathogen Disabling of Transcription Factors to Immunity. *Cell* 161:1074–1088. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.04.025>
- Lebar T, Jerala R (2016) Benchmarking of TALE- and CRISPR/dCas9-Based Transcriptional Regulators in Mammalian Cells for the Construction of Synthetic Genetic Circuits. *ACS Synth Biol* 5:1050–1058. <https://doi.org/10.1021/ACSSYNBIO.5B00259>
- Lee D, Lal NK, Lin Z-JD, et al (2020) Regulation of reactive oxygen species during plant immunity through phosphorylation and ubiquitination of RBOHD. *Nat Commun* 2020 11:1–16. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15601-5>
- Lee HA, Lee HY, Seo E, et al (2017) Current understandings of plant nonhost resistance. *Mol Plant-Microbe Interact* 30:5–15. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-16-0213-CR>
- Lee KS, Rasabandith S, Angeles ER, Khush GS (2003) Inheritance of resistance to bacterial blight in 21 cultivars of rice. *Phytopathology* 93:147–152. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.2.147>
- Lee SW, Choi SH, Han SS, et al (2007) Distribution of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Strains Virulent to Xa21 in Korea. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO19998910928> 89:928–933. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.10.928>
- Leister D (2004) Tandem and segmental gene duplication and recombination in the evolution of plant disease resistance genes. *Trends Genet* 20:116–122. <https://doi.org/10.1016/J.TIG.2004.01.007>
- Levine A, Tenhaken R, Dixon R, Lamb C (1994) H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79:583–593. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90544-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90544-4)
- Lewis DH (1973) CONCEPTS IN FUNGAL NUTRITION AND THE ORIGIN OF BIOTROPHY. *Biol Rev* 48:261–277. <https://doi.org/10.1111/J.1469-185X.1973.TB00982.X>
- Lewis JD, Lee AH-Y, Hassan JA, 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* 110:18722–18727. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1315520110>
- Li F, Pignatta D, Bendix C, et al (2012) MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:1790–1795. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118282109>
- Li L, Li M, Yu L, et al (2014) The FLS2-Associated Kinase BIK1 Directly Phosphorylates the NADPH Oxidase RbohD to Control Plant Immunity. *Cell Host Microbe* 15:329–338. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2014.02.009>
- Li X, Si W, Qin Q, et al (2018) Deciphering evolutionary dynamics of SWEET genes in diverse plant lineages. *Sci Reports* 2018 8:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31589-x>

- Li YG, Hu B, Christie PJ (2019) Biological and Structural Diversity of Type IV Secretion Systems. *Microbiol Spectr* 7:. <https://doi.org/10.1128/MICROBIOLSPEC.PSIB-0012-2018>
- Liebrand TWH, van den Burg HA, Joosten MHAI (2014) Two for all: Receptor-associated kinases SOBIR1 and BAK1. *Trends Plant Sci.* 19:123–132
- Lin Y, Fine EJ, Zheng Z, et al (2014) SAPTA: a new design tool for improving TALE nuclease activity. *Nucleic Acids Res* 42:e47–e47. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1363>
- Linares OF (2002) African rice (*Oryza glaberrima*): History and future potential. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:16360–16365. <https://doi.org/10.1073/pnas.252604599>
- Lindgren PB, Peet RC, Panopoulos NJ (1986) Gene cluster of *Pseudomonas syringae* pv. “phaseolicola” controls pathogenicity of bean plants and hypersensitivity on nonhost plants. *J Bacteriol* 168:512–522. <https://doi.org/10.1128/JB.168.2.512-522.1986>
- Liu B, Li JF, Ao Y, et al (2012a) Lysin motif-containing proteins LYP4 and LYP6 play dual roles in peptidoglycan and chitin perception in rice innate immunity. *Plant Cell* 24:3406–3419. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.102475>
- Liu C, Wu Y, Wang X (2012b) BZIP transcription factor OsbZIP52/RISBZ5: A potential negative regulator of cold and drought stress response in rice. *Planta* 235:1157–1169. <https://doi.org/10.1007/S00425-011-1564-Z/FIGURES/6>
- Liu J-Z, Horstman HD, Braun E, et al (2011a) Soybean Homologs of MPK4 Negatively Regulate Defense Responses and Positively Regulate Growth and Development. *Plant Physiol* 157:1363–1378. <https://doi.org/10.1104/PP.111.185686>
- Liu J, Elmore JM, Lin ZJD, Coaker G (2011b) A Receptor-like Cytoplasmic Kinase Phosphorylates the Host Target RIN4, Leading to the Activation of a Plant Innate Immune Receptor. *Cell Host Microbe* 9:137–146. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2011.01.010>
- Liu J, Zhang T, Jia J, Sun J (2016) The Wheat Mediator Subunit TaMED25 Interacts with the Transcription Factor TaEIL1 to Negatively Regulate Disease Resistance against Powdery Mildew. *Plant Physiol* 170:1799–1816. <https://doi.org/10.1104/PP.15.01784>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011c) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Liu W, Liu J, Triplett L, et al (2014) Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 52:213–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Liu W, Wang G-L (2016) Plant innate immunity in rice: a defense against pathogen infection. *Natl Sci Rev* 3:295–308. <https://doi.org/10.1093/NSR/NWW015>
- Liu Y, Zhang S (2004) Phosphorylation of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Synthase by MPK6, a Stress-Responsive Mitogen-Activated Protein Kinase, Induces Ethylene Biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 16:3386–3399. <https://doi.org/10.1105/TPC.104.026609>

- Long J, Song C, Yan F, et al (2018) Non-TAL effectors from *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* suppress peptidoglycan-triggered MAPK activation in rice. *Front Plant Sci* 871:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01857>
- Lu H, Patil P, Sluys M-A Van, et al (2008) Acquisition and Evolution of Plant Pathogenesis-Associated Gene Clusters and Candidate Determinants of Tissue-Specificity in *Xanthomonas*. *PLoS One* 3:e3828. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0003828>
- Lu X, Kracher B, Saur IML, et al (2016) Allelic barley MLA immune receptors recognize sequence-unrelated avirulence effectors of the powdery mildew pathogen. *Proc Natl Acad Sci* 113:E6486–E6495. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1612947113>
- Lund ST, Stall RE, Klee HJ (1998) Ethylene Regulates the Susceptible Response to Pathogen Infection in Tomato. *Plant Cell* 10:371–382. <https://doi.org/10.1105/TPC.10.3.371>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- M'Barek S Ben, Karisto P, Fakhfakh M, et al (2019) Improved control of *Septoria tritici* blotch in durum wheat using cultivar mixtures. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/664078>
- Ma S, Lapin D, Liu L, et al (2020) Direct pathogen-induced assembly of an NLR immune receptor complex to form a holoenzyme. *Science* (80-) 370:. <https://doi.org/10.1126/science.abe3069>
- Ma Y, Guo H, Hu L, et al (2018) Distinct modes of derepression of an *Arabidopsis* immune receptor complex by two different bacterial effectors. *Proc Natl Acad Sci* 115:10218–10227. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1811858115>
- Mackey D, Belkhadir Y, Alonso JM, et al (2003) *Arabidopsis* RIN4 Is a Target of the Type III Virulence Effector AvrRpt2 and Modulates RPS2-Mediated Resistance. *Cell* 112:379–389. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00040-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00040-0)
- Mackill DJ, Salam MA, Wang Y, Tanksley SD (1993) A major photoperiod-sensitivity gene tagged with RFLP and isozyme markers in rice. *Theor Appl Genet* 85:536–540
- Mago R, Zhang P, Vautrin S, et al (2015) The wheat Sr50 gene reveals rich diversity at a cereal disease resistance locus. *Nat Plants* 2015 112 1:1–3. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.186>
- Majer C, Hochholdinger F (2011) Defining the boundaries: structure and function of LOB domain proteins. *Trends Plant Sci* 16:47–52. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2010.09.009>
- Mak AN-S, Bradley P, Cernadas RA, et al (2012) The Crystal Structure of TAL Effector PthXo1 Bound to Its DNA Target. *Science* (80-) 335:716–719. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1216211>
- Manck-Götzenberger J, Requena N (2016) Arbuscular mycorrhiza Symbiosis Induces a Major Transcriptional Reprogramming of the Potato SWEET Sugar Transporter Family. *Front Plant Sci* 0:487. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2016.00487>

- Manser PD (1984) Rice pests in the Gabon. <https://www.cabi.org/isc/abstract/19850521097>. Accessed 14 Aug 2021
- Mansfield J, Genin S, Magori S, et al (2012) Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 13:614–629. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2012.00804.X>
- Maqbool A, Saitoh H, Franceschetti M, et al (2015) Structural basis of pathogen recognition by an integrated HMA domain in a plant NLR immune receptor. *Elife* 4:. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.08709>
- Marois E, Van Den Ackerveken G, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.7.637>
- Martin R, Qi T, Zhang H, et al (2020) Structure of the activated ROQ1 resistosome directly recognizing the pathogen effector XopQ. *Science* (80-) 370:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABD9993>
- Matsuoka M, Fukayama H, Ku MSB, Miyao M (2001) High-level expression of 4 photosynthetic genes in transgenic rice. 439–447. https://doi.org/10.1142/9789812814296_0029
- McDonald BA, Linde C (2002a) Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:349–379
- McDonald BA, Linde C (2002b) The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica* 2002 1242 124:163–180. <https://doi.org/10.1023/A:1015678432355>
- McNally KL, Childs KL, Bohnert R, et al (2009) Genomewide SNP variation reveals relationships among landraces and modern varieties of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:12273–12278. <https://doi.org/10.1073/pnas.0900992106>
- Meckler JF, Bhakta MS, Kim M-S, et al (2013) Quantitative analysis of TALE–DNA interactions suggests polarity effects. *Nucleic Acids Res* 41:4118–4128. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT085>
- Medina CA, Reyes PA, Trujillo CA, et al (2018) The role of type III effectors from *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in virulence and suppression of plant immunity. *Mol Plant Pathol* 19:593–606. <https://doi.org/10.1111/mpp.12545>
- Meng X, Zhang S (2013) MAPK cascades in plant disease resistance signaling. *Annu Rev Phytopathol* 51:245–266. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082712-102314>
- Mesarich CH, Bowen JK, Hamiaux C, Templeton MD (2015) Repeat-containing protein effectors of plant-associated organisms. *Front Plant Sci* 0:872. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00872>
- Mew TW (1992) Changes in Race Frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Response to Rice Cultivars Planted in the Philippines . *Plant Dis* 76:1029. <https://doi.org/10.1094/PD-76-1029>

- Mew TW (1989) An overview of the world bacterial blight situation. https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=G_L8pPRZmjwC&oi=fnd&pg=PA7&dq=Mew+TW.+1989.+An+overview+of+the+world+bacterial+blight+situation.+Bac-+terial+blight+of+rice,+p+7-12.+In+Bacterial+blight+of+rice:+proceedings+of+the+International+Workshop+on+Bacte. Accessed 14 Aug 2021
- Mew TW (1993) Focus on Bacterial Blight of Rice. *Plant Dis* 77:5. <https://doi.org/10.1094/PD-77-0005>
- Meyer RS, Choi JY, Sanches M, et al (2016) Domestication history and geographical adaptation inferred from a SNP map of African rice. *Nat Genet* 48:1083–1088. <https://doi.org/10.1038/ng.3633>
- Miller JC, Tan S, Qiao G, et al (2010) A TALE nuclease architecture for efficient genome editing. *Nat Biotechnol* 29:143–148. <https://doi.org/10.1038/nbt.1755>
- Miyanari Y, Ziegler-Birling C, Torres-Padilla M-E (2013) Live visualization of chromatin dynamics with fluorescent TALEs. *Nat Struct Mol Biol* 20:1321–1324. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2680>
- Mizukami T, Wakimoto S (1969) Epidemiology and Control of Bacterial Leaf Blight of Rice. *Annu Rev Phytopathol* 7:51–72. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.07.090169.000411>
- Mizuno H, Kasuga S, Kawahigashi H (2016) The sorghum SWEET gene family: stem sucrose accumulation as revealed through transcriptome profiling. *Biotechnol Biofuels* 9:1–12. <https://doi.org/10.1186/S13068-016-0546-6>
- Mondal KK, Soni M, Verma G, et al (2020) *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* depends on multiple non-TAL (Xop) T3SS effectors for its coveted growth inside the pomegranate plant through repressing the immune responses during bacterial blight development. *Microbiol Res* 240:126560. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126560>
- Mondragon-Palomino M, Gaut BS (2005) Gene Conversion and the Evolution of Three Leucine-Rich Repeat Gene Families in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Biol Evol* 22:2444–2456. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSI241>
- Moon JY, Park JM (2016) Cross-Talk in Viral Defense Signaling in Plants. *Front Microbiol* 7:2068. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.02068>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Mundt CC (2002) Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:381–410
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant59032607092911> 59:651–681. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.ARPLANT.59.032607.092911>

- Natarajkumar P, Mishra BK (2008) Molecular mapping of a novel bacterial blight resistance gene from *Oryza nivara* Mathematical models on cyber attack in wired and wireless network View project bio prospecting of genes and allele mining for abiotic stress tolerance View project
- Neff KL, Argue DP, Ma AC, et al (2013) Mojo Hand, a TALEN design tool for genome editing applications. *BMC Bioinforma* 2013 14:1–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-1>
- Ngou BPM, Ahn H-K, Ding P, et al (2020) Estradiol-inducible AvrRps4 expression reveals distinct properties of TIR-NLR-mediated effector-triggered immunity. *J Exp Bot* 71:2186–2197. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERZ571>
- Ngou BPM, Ahn H-K, Ding P, Jones JDG (2021) Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors. *Nat* 2021 5927852 592:110–115. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03315-7>
- Nguyen VN (2003) Recent development in rice production in Sub-Sahara Africa and the dissemination of NERICA. *FAO-Japanese Nihon Univ Symp Food Secur Africa*, Nihon Univ Fujisawa, Japan, 2003
- Nicaise V, Candresse T (2017) Plum pox virus capsid protein suppresses plant pathogen-associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity. *Mol Plant Pathol* 18:878–886. <https://doi.org/10.1111/MPP.12447>
- Niehl A, Wyrsh I, Boller T, Heinlein M (2016) Double-stranded RNAs induce a pattern-triggered immune signaling pathway in plants. *New Phytol* 211:1008–1019. <https://doi.org/10.1111/nph.13944>
- Niño-Liu DO, Ronald PC, Bogdanove AJ (2006) *Xanthomonas oryzae* pathovars: Model pathogens of a model crop. *Mol Plant Pathol* 7:303–324. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x>
- Niroula RK, Pucciariello C, Ho VT, et al (2012) SUB1A-dependent and -independent mechanisms are involved in the flooding tolerance of wild rice species. *Plant J* 72:282–293. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2012.05078.X>
- Noda T, Yamamoto T (2008) Reaction of *Leersia* grasses to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* collected from Japan and Asian countries. *J Gen Plant Pathol* 2008 74:395–401. <https://doi.org/10.1007/S10327-008-0118-0>
- Nomura H, Komori T, Uemura S, et al (2012) Chloroplast-mediated activation of plant immune signalling in *Arabidopsis*. *Nat Commun* 2012 31 3:1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms1926>
- Nühse TS, Bottrill AR, Jones AME, Peck SC (2007) Quantitative phosphoproteomic analysis of plasma membrane proteins reveals regulatory mechanisms of plant innate immune responses. *Plant J* 51:931–940. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2007.03192.X>
- Nühse TS, Peck SC, Hirt H, Boller T (2000) Microbial Elicitors Induce Activation and Dual Phosphorylation of the *Arabidopsis thaliana* MAPK 6 *. *J Biol Chem* 275:7521–7526. <https://doi.org/10.1074/JBC.275.11.7521>

- Ochiai H, INOUE Y, TAKEYA M, et al (2005) Genome Sequence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Suggests Contribution of Large Numbers of Effector Genes and Insertion Sequences to Its Race Diversity. *Japan Agric Res Q JARQ* 39:275–287. <https://doi.org/10.6090/JARQ.39.275>
- Ogawa T (1993) Methods and Strategy for Monitoring Race Distribution and Identification of Resistance Genes to Bacterial Leaf Blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) in Rice. *JARQ* 27:71–80
- Ogawa T (1988) Near-isogenic lines as international differentials for resistance to bacterial blight of rice. *Rice Genet Newsl* 5:106–107
- Ogawa T, Busto GA, Tabien JRE, et al (1991) Grouping of Rice Cultivars based on Reaction Pattern to Philippine Races of Bacterial Blight Pathogen (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*). *Japanese J Breed* 41:109–119. <https://doi.org/10.1270/JSBBS1951.41.109>
- Ojanen T, Helander IM, Haahtela K, et al (1993) Outer membrane proteins and lipopolysaccharides in pathovars of *Xanthomonas campestris*. *Appl Environ Microbiol* 59:4143–4151. <https://doi.org/10.1128/AEM.59.12.4143-4151.1993>
- Orjuela J, Sabot F, Chéron S, et al (2014) An extensive analysis of the African rice genetic diversity through a global genotyping. *Theor Appl Genet* 127:2211–2223. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2374-z>
- Osman HA, Ameen HH, Mohamed M, Elkelany US (2020) Efficacy of integrated microorganisms in controlling root-knot nematode *Meloidogyne javanica* infecting peanut plants under field conditions. *Bull Natl Res Cent* 2020 441 44:1–10. <https://doi.org/10.1186/S42269-020-00366-0>
- Ou SH (1985) *Rice Diseases* - Shu Huang Ou, Commonwealth Mycological Institute (Great Britain) - Google Books. [https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=-k3mewv9nMoC&oi=fnd&pg=PR1&dq=Ou,+S.H.+\(1972\)+Rice+Diseases.+Kew,+Surrey:+Commonwealth+Mycological+Institute&ots=Zmj_ryvifh&sig=_IBFY6CEqaO1J3ryoPRe7Ui9zhQ#v=onepage&q&f=false](https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=-k3mewv9nMoC&oi=fnd&pg=PR1&dq=Ou,+S.H.+(1972)+Rice+Diseases.+Kew,+Surrey:+Commonwealth+Mycological+Institute&ots=Zmj_ryvifh&sig=_IBFY6CEqaO1J3ryoPRe7Ui9zhQ#v=onepage&q&f=false). Accessed 14 Aug 2021
- Pallas V, García JA (2011) How do plant viruses induce disease? Interactions and interference with host components. *J Gen Virol* 92:2691–2705. <https://doi.org/10.1099/VIR.0.034603-0>
- Palmgren MG, Edenbrandt AK, Vedel SE, et al (2015) Are we ready for back-to-nature crop breeding? *Trends Plant Sci.* 20:155–164
- Pandey MK, Shobha Rani N, Sundaram RM, et al (2012) Improvement of two traditional Basmati rice varieties for bacterial blight resistance and plant stature through morphological and marker-assisted selection. *Mol Breed* 2012 311 31:239–246. <https://doi.org/10.1007/S11032-012-9779-7>
- Pandey SP, Somssich IE (2009) The Role of WRKY Transcription Factors in Plant Immunity. *Plant Physiol* 150:1648–1655. <https://doi.org/10.1104/PP.109.138990>

- Park JM, Park C-J, Lee S-B, et al (2001) Overexpression of the Tobacco Tsi1 Gene Encoding an EREBP/AP2-Type Transcription Factor Enhances Resistance against Pathogen Attack and Osmotic Stress in Tobacco. *Plant Cell* 13:1035–1046. <https://doi.org/10.1105/TPC.13.5.1035>
- Pedley KF, Martin GB (2005) Role of mitogen-activated protein kinases in plant immunity. *Curr Opin Plant Biol* 8:541–547. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2005.07.006>
- Pérez-Quintero AL, Lamy L, L.Gordon J, et al (2015) QueTAL: A suite of tools to classify and compare TAL effectors functionally and phylogenetically. *Front Plant Sci* 6:1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00545>
- Pérez-Quintero AL, Rodriguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Perez-Quintero AL, Szurek B (2019) A Decade Decoded: Spies and Hackers in the History of TAL Effectors Research. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100026> 57:459–481. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082718-100026>
- Petpisit V, Khush GS, Kauffman HE (1977) Inheritance of Resistance to Bacterial Blight in Rice1. *Crop Sci* 17:551–554. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI1977.0011183X001700040018X>
- Pieterse CMJ, Leon-Reyes A, Van der Ent S, Van Wees SCM (2009) Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nat Chem Biol* 2009 55 5:308–316. <https://doi.org/10.1038/nchembio.164>
- Poland JA, Balint-Kurti PJ, Wisser RJ, et al (2009) Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci.* 14:21–29
- Ponciano G, Webb K, Bai J, et al (2004) Molecular characterization of the *avrXa7* locus from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* field isolates. *Physiol Mol Plant Pathol* 64:145–153. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.08.001>
- Popov G, Fraiture M, Brunner F, Sessa G (2016) Multiple *Xanthomonas euvesicatoria* Type III Effectors Inhibit *flg22*-Triggered Immunity. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R> 29:651–660. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R>
- Portères R (1962) Berceaux Agricoles Primaires Sur Le Continent Africain. *J Afr Hist* 3:195–210. <https://doi.org/10.1017/S0021853700003030>
- Postma J, Liebrand TWH, Bi G, et al (2016) *Avr4* promotes Cf-4 receptor-like protein association with the BAK1/SERK3 receptor-like kinase to initiate receptor endocytosis and plant immunity. *New Phytol* 210:627–642. <https://doi.org/10.1111/NPH.13802>
- Potrykus (2003) *Rice Science: Innovations and Impact for Livelihood* - Google Books. https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=Bkzs5PwmRFMC&oi=fnd&pg=PA379&dq=potrykus+2003+Golden+rice&ots=BRAYjmyX4O&sig=Qcxnu2ozNPO_CpBCzdIjhma20FQ&redir_esc=y#v=onepage&q=potrykus+2003+Golden+rice&f=false. Accessed 12 Aug 2021

- Poulin L, Grygiel P, Magne M, et al (2015) New multilocus variable-number tandem-repeat analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 81:688–698. <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>
- Poulin L, Raveloson H, Sester M, et al (2014) Confirmation of bacterial leaf streak caused by *xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* on rice in Madagascar. *Plant Dis* 98:1423. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-14-0132-PDN>
- Pruitt RN, Schwessinger B, Joe A, et al (2015) The rice immune receptor XA21 recognizes a tyrosine-sulfated protein from a Gram-negative bacterium. *Sci Adv* 1:e1500245. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500245>
- Purugganan MD (2019) Evolutionary Insights into the Nature of Plant Domestication. *Curr Biol* 29:R705–R714. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2019.05.053>
- Qi D, DeYoung BJ, Innes RW (2012) Structure-Function Analysis of the Coiled-Coil and Leucine-Rich Repeat Domains of the RPS5 Disease Resistance Protein. *Plant Physiol* 158:1819–1832. <https://doi.org/10.1104/PP.112.194035>
- Qiu D, Xiao J, Ding X, et al (2007) OsWRKY13 mediates rice disease resistance by regulating defense-related genes in salicylate- and jasmonate-dependent signaling. *Mol Plant Microbe Interact* 20:492–499. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0492>
- Quibod IL, Atieza-Grande G, Oreiro EG, et al (2020) The Green Revolution shaped the population structure of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *ISME J* 14:492–505. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0545-2>
- Quibod IL, Perez-Quintero A, Booher NJ, et al (2016) Effector Diversification Contributes to *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* Phenotypic Adaptation in a Semi-Isolated Environment. *Sci Rep* 6:1–11. <https://doi.org/10.1038/srep34137>
- Raghavan C, Mauleon R, Lacorte V, et al (2017) Approaches in Characterizing Genetic Structure and Mapping in a Rice Multiparental Population. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 7:1721–1730. <https://doi.org/10.1534/G3.117.042101>
- Rajeshwari R, Sonti R V. (2000) Stationary-phase variation due to transposition of novel insertion elements in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J Bacteriol* 182:4797–4802. <https://doi.org/10.1128/JB.182.17.4797-4802.2000>
- Ramakrishnan SM, Sidhu JS, Ali S, et al (2019) Molecular characterization of bacterial leaf streak resistance in hard winter wheat. *PeerJ* 2019:. <https://doi.org/10.7717/peerj.7276>
- Ranf S, Eschen-Lippold L, Pecher P, et al (2011) Interplay between calcium signalling and early signalling elements during defence responses to microbe- or damage-associated molecular patterns. *Plant J* 68:100–113. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2011.04671.X>
- Ray SK, Rajeshwari R, Sharma Y, Sonti R V. (2002) A high-molecular-weight outer membrane protein of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* exhibits similarity to non-fimbrial adhesins of

animal pathogenic bacteria and is required for optimum virulence. *Mol Microbiol* 46:637–647. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2958.2002.03188.X>

- Rayapuram N, Bonhomme L, Bigeard J, et al (2014) Identification of Novel PAMP-Triggered Phosphorylation and Dephosphorylation Events in *Arabidopsis thaliana* by Quantitative Phosphoproteomic Analysis. *J Proteome Res* 13:2137–2151. <https://doi.org/10.1021/PR401268V>
- Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020a) Genome assembly and characterization of a complex zFBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zFBED-NLR gene-containing Dis Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678. <https://doi.org/10.1101/675678>
- Read AC, Hutin M, Moscou MJ, et al (2020b) Cloning of the rice Xo1 resistance gene and interaction of the Xo1 protein with the defense-suppressing *Xanthomonas* effector Tal2h. *Mol Plant-Microbe Interact* 33:1189–1195. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-20-0131-SC>
- Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516>
- Reckhaus PM (1983) Occurrence of Bacterial Blight of Rice in Niger, West Africa. *Plant Dis* 67:1039. <https://doi.org/10.1094/PD-67-1039>
- Redditt TJ, Chung E-H, Karimi HZ, et al (2019) AvrRpm1 Functions as an ADP-Ribosyl Transferase to Modify NOI Domain-Containing Proteins, Including *Arabidopsis* and Soybean RPM1-Interacting Protein4. *Plant Cell* 31:2664–2681. <https://doi.org/10.1105/TPC.19.00020>
- Regenmortel MHV van, Fauquet CM, Bishop DHL, et al (2000) Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Virus Taxon Classif Nomencl viruses Seventh Rep Int Comm Taxon Viruses*
- Rigano LA, Siciliano F, Enrique R, et al (2007) Biofilm Formation, Epiphytic Fitness, and Canker Development in *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-20-10-1222> 20:1222–1230. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-10-1222>
- Rivas S, Thomas CM (2005) Molecular interactions between tomato and the leaf mold pathogen *Cladosporium fulvum*. *Annu Rev Phytopathol* 43:395–436. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.140224>
- Robatzek S, Bittel P, Chinchilla D, 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. <https://doi.org/10.1007/s11103-007-9173-8>
- Rodriguez-R LM, Konstantinidis KT (2016) The enveomics collection: a toolbox for specialized analyses of microbial genomes and metagenomes. <https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.1900v1>

- Romagosa I, Prada D, Moralejo MA, et al (2001) Dormancy, ABA content and sensitivity of a barley mutant to ABA application during seed development and after ripening. *J Exp Bot* 52:1499–1506. <https://doi.org/10.1093/JEXBOT/52.360.1499>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Römer P, Recht S, Strauß T, 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. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03217.X>
- Roux F, Voisin D, Badet T, et al (2014) Resistance to phytopathogens e tutti quanti: Placing plant quantitative disease resistance on the map. *Mol Plant Pathol* 15:427–432. <https://doi.org/10.1111/MPP.12138>
- Ruh M, Briand M, Bonneau S, et al (2017) *Xanthomonas* adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. *BMC Genomics* 18:670. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4087-6>
- Ryba-White M, Notteghem JL, Leach J. (1995) Comparison of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains from Africa, North America, and Asia by restriction fragment length polymorphism analysis. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=QR9500053>. Accessed 14 Aug 2021
- Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, et al (2003) Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theor Appl Genet* 106:794–803. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1088-9>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 91 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Sano Y (1990) The genic nature of gamete eliminator in rice. *Genetics* 125:183–191. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/125.1.183>
- Sarris PF, Duxbury Z, Huh SU, et al (2015) A Plant Immune Receptor Detects Pathogen Effectors that Target WRKY Transcription Factors. *Cell* 161:1089–1100. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.04.024>
- Sasaki T, Burr B (2000) International Rice Genome Sequencing Project: The effort to completely sequence the rice genome. *Curr Opin Plant Biol* 3:138–142. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)00047-3](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)00047-3)
- Sax K (1923) The Association of Size Differences with Seed-Coat Pattern and Pigmentation in *PHASEOLUS VULGARIS*. *Genetics* 8:552

- Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol* 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>
- Schirawski J, Perlin MH (2018) Plant–microbe interaction 2017—the good, the bad and the diverse. *Int J Mol Sci* 19:. <https://doi.org/10.3390/ijms19051374>
- Schornack S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>
- Schornack S, Peter K, Bonas U, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-1215>
- Schultink A, Qi T, Bally J, Staskawicz B (2019) Using forward genetics in *Nicotiana benthamiana* to uncover the immune signaling pathway mediating recognition of the *Xanthomonas perforans* effector XopJ4. *New Phytol* 221:1001–1009. <https://doi.org/10.1111/NPH.15411>
- Schwartz AR, Morbitzer R, Lahaye T, Staskawicz BJ (2017) TALE-induced bHLH transcription factors that activate a pectate lyase contribute to water soaking in bacterial spot of tomato. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114:E897–E903. <https://doi.org/10.1073/pnas.1620407114>
- Semon M, Nielsen R, Jones MP, McCouch SR (2005) The Population Structure of African Cultivated Rice *Oryza glaberrima* (Steud.). *Genetics* 169:1639–1647. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.033175>
- Serra H, Choi K, Zhao X, et al (2018) Interhomolog polymorphism shapes meiotic crossover within RAC1 and RPP13 disease resistance genes. *bioRxiv* 290478. <https://doi.org/10.1101/290478>
- Serrano M, Coluccia F, Torres M, et al (2014) The cuticle and plant defense to pathogens. *Front Plant Sci* 0:274. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00274>
- Seto D, Koulena N, Lo T, et al (2017) Expanded type III effector recognition by the ZAR1 NLR protein using ZED1-related kinases. *Nat Plants* 2017 34 3:1–4. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.27>
- Shao F, Golstein C, Ade J, et al (2003) Cleavage of *Arabidopsis* PBS1 by a Bacterial Type III Effector. *Science* (80-) 301:1230–1233. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1085671>
- Shen X, LIU H, YUAN B, et al (2011) OsEDR1 negatively regulates rice bacterial resistance via activation of ethylene biosynthesis. *Plant Cell Environ* 34:179–191. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2010.02219.X>
- Shibata Y, Kawakita K, Takemoto D (2010) Age-Related Resistance of *Nicotiana benthamiana* Against Hemibiotrophic Pathogen *Phytophthora infestans* Requires Both Ethylene- and Salicylic Acid–Mediated Signaling Pathways. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-23-9-1130> 23:1130–1142. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-9-1130>

- Shimizu T, Nakano T, Takamizawa D, et al (2010) Two LysM receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice. *Plant J* 64:204–214. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04324.x>
- Shivaprasad P V., Chen HM, Patel K, et al (2012) A microRNA superfamily regulates nucleotide binding site-leucine-rich repeats and other mRNAs. *Plant Cell* 24:859–874. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.095380>
- Si M, Wang Y, Zhang B, et al (2017a) The Type VI Secretion System Engages a Redox-Regulated Dual-Functional Heme Transporter for Zinc Acquisition. *Cell Rep* 20:949–959. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2017.06.081>
- Si M, Zhao C, Burkinshaw B, et al (2017b) Manganese scavenging and oxidative stress response mediated by type VI secretion system in *Burkholderia thailandensis*. *Proc Natl Acad Sci* 114:E2233–E2242. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1614902114>
- Sidhu GS, Khush GS, Mew TW (1978) Genetic analysis of bacterial blight resistance in seventy-four cultivars of rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet* 1978 533 53:105–111. <https://doi.org/10.1007/BF00272687>
- Sigee DC (1993) *Bacterial Plant Pathology*. *Bact Plant Pathol*. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511525476>
- Silva L da C e, Cruz CD, Moreira MA, Barros EG de (2007) Simulation of population size and genome saturation level for genetic mapping of recombinant inbred lines (RILs). *Genet Mol Biol* 30:1101–1108. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572007000600013>
- Simpson AJG, Reinach FC, Arruda P, et al (2000) The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Nat* 2000 4066792 406:151–157. <https://doi.org/10.1038/35018003>
- Singh DV, Banerjee AK, Kishun R, Abidi AB (1980) Effect of bacterial leaf streak on the quantitative and qualitative characters of rice. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301294453>. Accessed 14 Aug 2021
- Slootweg EJ, Spiridon LN, Roosien J, et al (2013) Structural Determinants at the Interface of the ARC2 and Leucine-Rich Repeat Domains Control the Activation of the Plant Immune Receptors Rx1 and Gpa2. *Plant Physiol* 162:1510–1528. <https://doi.org/10.1104/PP.113.218842>
- Soller M, Brody T, Genizi A (1976) On the power of experimental designs for the detection of linkage between marker loci and quantitative loci in crosses between inbred lines. *Theor Appl Genet* 47:35–39. <https://doi.org/10.1007/BF00277402>
- Song C, Yang B (2010) Mutagenesis of 18 type III effectors reveals virulence function of XopZPXO99in *xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant-Microbe Interact* 23:893–902. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-7-0893>
- Soreng RJ, Peterson PM, Romaschenko K, et al (2015) A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). *J Syst Evol* 53:117–137. <https://doi.org/10.1111/jse.12150>

- Spoel SH, Dong X (2012) How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nat Rev Immunol* 2012 122 12:89–100. <https://doi.org/10.1038/nri3141>
- Spoel SH, Johnson JS, Dong X (2007) Regulation of tradeoffs between plant defenses against pathogens with different lifestyles. *Proc Natl Acad Sci* 104:18842–18847. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0708139104>
- St.clair DA (2010) Quantitative disease resistance and quantitative resistance loci in breeding. *Annu Rev Phytopathol* 48:247–268. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081904>
- Stam R, Scheikl D, Tellier A (2016) Pooled Enrichment Sequencing Identifies Diversity and Evolutionary Pressures at NLR Resistance Genes within a Wild Tomato Population. *Genome Biol Evol* 8:1501–1515. <https://doi.org/10.1093/GBE/EVW094>
- Stam R, Silva-Arias GA, Tellier A (2019) Subsets of NLR genes show differential signatures of adaptation during colonization of new habitats. *New Phytol* 224:367–379. <https://doi.org/10.1111/NPH.16017>
- Starr MP (1981) The Genus *Xanthomonas*. *The Prokaryotes* 742–763. https://doi.org/10.1007/978-3-662-13187-9_62
- Stein JC, Yu Y, Copetti D, et al (2018) Genomes of 13 domesticated and wild rice relatives highlight genetic conservation, turnover and innovation across the genus *Oryza*. *Nat Genet* 50:285–296. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0040-0>
- Stergiopoulos I, De Wit PJGM (2009) Fungal Effector Proteins. <http://dx.doi.org/101146/annurev.phyto112408132637> 47:233–263. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.112408.132637>
- Stingl K, Müller S, Scheidgen-Kleyboldt G, et al (2010) Composite system mediates two-step DNA uptake into *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci* 107:1184–1189. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0909955107>
- Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW (2002) Biofilms as Complex Differentiated Communities. <http://dx.doi.org/101146/annurev.micro56012302160705> 56:187–209. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.MICRO.56.012302.160705>
- Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>
- Streubel J, Blücher C, Landgraf A, Boch J (2012) TAL effector RVD specificities and efficiencies. *Nat Biotechnol* 30:593–595. <https://doi.org/10.1038/nbt.2304>
- Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>
- Sturtevant AH (1913) The linear arrangement of six sex linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *J Exp Zool* 14:43–59. <https://doi.org/10.1002/jez.1400140104>

- Su J, Yang L, Zhu Q, et al (2018) Active photosynthetic inhibition mediated by MPK3/MPK6 is critical to effector-triggered immunity. *PLOS Biol* 16:e2004122. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.2004122>
- Sugano S, Sugimoto T, Takatsuji H, Jiang C-J (2013) Induction of resistance to *Phytophthora sojae* in soyabean (*Glycine max*) by salicylic acid and ethylene. *Plant Pathol* 62:1048–1056. <https://doi.org/10.1111/PPA.12011>
- Sugio A, Yang B, Zhu T, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701742104>
- Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) *Xa26*, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>
- Sun Y, Li L, Macho AP, et al (2013) Structural basis for *flg22*-induced activation of the *Arabidopsis* FLS2-BAK1 immune complex. *Science* (80-) 342:624–628. <https://doi.org/10.1126/science.1243825>
- Sundaram RM, Vishnupriya MR, Biradar SK, et al (2007) Marker assisted introgression of bacterial blight resistance in Samba Mahsuri, an elite indica rice variety. *Euphytica* 2007 1603 160:411–422. <https://doi.org/10.1007/S10681-007-9564-6>
- Sweeney M, McCouch S (2007) The Complex History of the Domestication of Rice. *Ann Bot* 100:951–957. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm128>
- Swings J, Mooter M Van Den, Vauterin L, et al (1990) Reclassification of the causal agents of bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of rice as pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev. *Int J Syst Bacteriol* 40:309–311. <https://doi.org/10.1099/00207713-40-3-309>
- Szczesny R, Jordan M, Schramm C, et al (2010) Functional characterization of the Xcs and Xps type II secretion systems from the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *New Phytol* 187:983–1002. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2010.03312.X>
- Szurek B, Rossier O, Hause G, Bonas U (2002) Type III-dependent translocation of the *Xanthomonas* AvrBs3 protein into the plant cell. *Mol Microbiol* 46:13–23. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03139.x>
- Tagami Y, Mizukami T (1962) Historical review of the researches on bacterial blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* (Uyede and Ishiyama) Dowson. *Spec Rep Plant Dis Ins Pests Forecast Serv* 10:112
- Taheri P, Tarighi S (2010) Riboflavin induces resistance in rice against *Rhizoctonia solani* via jasmonate-mediated priming of phenylpropanoid pathway. *J Plant Physiol* 167:201–208. <https://doi.org/10.1016/J.JPLPH.2009.08.003>

- Takai R, Isogai A, Takayama S, Che FS (2008) Analysis of flagellin perception mediated by flg22 receptor OsFLS2 in rice. *Mol Plant-Microbe Interact* 21:1635–1642. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-12-1635>
- Takken FL, Albrecht M, Tameling W IL, et al (2006) Resistance proteins: molecular switches of plant defence. *9:383–390*. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2006.05.009>
- Takken FLW, Govere A (2012) How to build a pathogen detector: structural basis of NB-LRR function. *Curr Opin Plant Biol* 15:375–384. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2012.05.001>
- Tameling WIL, Vossen JH, Albrecht M, et al (2006) Mutations in the NB-ARC Domain of I-2 That Impair ATP Hydrolysis Cause Autoactivation. *Plant Physiol* 140:1233–1245. <https://doi.org/10.1104/PP.105.073510>
- Tan GX, Ren X, Weng QM, et al (2004) Mapping of a new resistance gene to bacterial blight in rice line introgressed from *Oryza officinalis*. *Acta Genet Sin* 31:724–729
- Tao Z, Liu H, Qiu D, et al (2009) A pair of allelic WRKY genes play opposite roles in rice-bacteria interactions. *Plant Physiol* 151:936–948. <https://doi.org/10.1104/PP.109.145623>
- Tekete C, Cunnac S, Doucouré H, et al (2020) Characterization of New Races of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* in Mali Informs Resistance Gene Deployment. *Phytopathology* 110:267–277. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R>
- Thiemele D, Albar L, Perez S, et al (2008) Diversité de gènes de résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV) chez l'espèce africaine du riz cultivé *O. glaberrima* Steud-fdi:010043928- Horizon. <https://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:010043928>. Accessed 12 Aug 2021
- Thomas CM, Dixon MS, Parniske M, et al (1998) Genetic and molecular analysis of tomato Cf genes for resistance to *Cladosporium fulvum*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 353:1413–1424. <https://doi.org/10.1098/RSTB.1998.0296>
- Tian D, Wang J, Zeng 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>
- Timilsina S, Potnis N, Newberry EA, et al (2020) *Xanthomonas* diversity, virulence and plant–pathogen interactions. *Nat Rev Microbiol* 18:415–427. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0361-8>
- Tintor N, Ross A, Kanehara K, et al (2013) Layered pattern receptor signaling via ethylene and endogenous elicitor peptides during *Arabidopsis* immunity to bacterial infection. *Proc Natl Acad Sci* 110:6211–6216. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1216780110>
- Torres MA, Dangl JL, Jones JDG (2002) *Arabidopsis* gp91phox homologues AtrbohD and AtrbohF are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response. *Proc Natl Acad Sci* 99:517–522. <https://doi.org/10.1073/PNAS.012452499>

- Torres PS, Malamud F, Rigano LA, et al (2007) Controlled synthesis of the DSF cell–cell signal is required for biofilm formation and virulence in *Xanthomonas campestris*. *Environ Microbiol* 9:2101–2109. <https://doi.org/10.1111/J.1462-2920.2007.01332.X>
- Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice. *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>
- Trdá L, Fernandez O, Boutrot F, 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. <https://doi.org/10.1111/nph.12592>
- Trinh T. (1980) New rice diseases and insects in the Senegal River basin in 1978/79. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19806734835>. Accessed 14 Aug 2021
- Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger 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. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>
- Triplett LR, Verdier V, Campillo T, et al (2015) Characterization of a novel clade of *Xanthomonas* isolated from rice leaves in Mali and proposal of *Xanthomonas maliensis* sp. nov. *Antonie van Leeuwenhoek*, *Int J Gen Mol Microbiol* 107:869–881
- Tsuda K, Mine A, Bethke G, et al (2013) Dual Regulation of Gene Expression Mediated by Extended MAPK Activation and Salicylic Acid Contributes to Robust Innate Immunity in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS Genet* 9:e1004015. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1004015>
- Ueno Y, Yoshida R, Kishi-Kaboshi M, et al (2015) Abiotic Stresses Antagonize the Rice Defence Pathway through the Tyrosine-Dephosphorylation of OsMPK6. *PLOS Pathog* 11:e1005231. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1005231>
- Üstün S, Börnke F (2014) Interactions of *Xanthomonas* type-III effector proteins with the plant ubiquitin and ubiquitin-like pathways. *Front Plant Sci* 0:736. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00736>
- Van Andel T (2010) African Rice (*Oryza glaberrima* Steud.): Lost Crop of the Enslaved Africans Discovered in Suriname1. *Econ Bot* 2010 641 64:1–10. <https://doi.org/10.1007/S12231-010-9111-6>
- Van de Weyer AL, Monteiro F, Furzer OJ, et al (2019) A Species-Wide Inventory of NLR Genes and Alleles in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 178:1260-1272.e14. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.07.038>
- Van Der Hoorn RAL, Kamoun S (2008) From guard to decoy: A new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell* 20:2009–2017. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.060194>

- Van Wees SC, Van der Ent S, Pieterse CM (2008) Plant immune responses triggered by beneficial microbes. *Curr Opin Plant Biol* 11:443–448. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2008.05.005>
- Vaughan DA, Lu BR, Tomooka N (2008) The evolving story of rice evolution. *Plant Sci* 174:394–408. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.01.016>
- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Triplett LR, Hummel AW, et al (2012) Transcription activator-like (TAL) effectors targeting OsSWEET genes enhance virulence on diverse rice (*Oryza sativa*) varieties when expressed individually in a TAL effector-deficient strain of *Xanthomonas oryzae*. *New Phytol* 196:1197–1207. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2012.04367.X>
- Verma G, Mondal KK, Kulshreshtha A, Sharma M (2019) XopR T3SS-effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* suppresses cell death-mediated plant defense response during bacterial blight development in rice. *3 Biotech* 9:272. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1802-9>
- Vikal Y, Bhatia D (2017) Genetics and Genomics of Bacterial Blight Resistance in Rice. In: *Advances in International Rice Research*. InTech
- Vleeshouwers V, Oliver R (2014) Effectors as tools in disease resistance breeding against biotrophic, hemibiotrophic, and necrotrophic plant pathogens. *Mol Plant Microbe Interact* 27:196–206. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-13-0313-IA>
- Vojnov AA, Zorreguieta A, Dow JM, et al (1998) Evidence for a role for the gumB and gumC gene products in the formation of xanthan from its pentasaccharide repeating unit by *Xanthomonas campestris*. *Microbiology* 144:1487–1493. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-6-1487>
- Vorhölter F-J, Niehaus K, Pühler A (2001) Lipopolysaccharide biosynthesis in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*: a cluster of 15 genes is involved in the biosynthesis of the LPS O-antigen and the LPS core. *Mol Genet Genomics* 201 266:79–95. <https://doi.org/10.1007/S004380100521>
- Voytas DF, Joung JK (2009) DNA Binding Made Easy. *Science* (80-) 326:1491–1492. <https://doi.org/10.1126/science.1183604>
- Waksman G (2019) From conjugation to T4S systems in Gram-negative bacteria: a mechanistic biology perspective. *EMBO Rep* 20:e47012. <https://doi.org/10.15252/EMBR.201847012>
- Wang C, Chen S, Feng A, et al (2021) Xa7, a Small Orphan Gene Harboring Promoter Trap for AvrXa7, Leads to the Durable Resistance to *Xanthomonas oryzae* Pv. *oryzae*. *Rice* 14:48. <https://doi.org/10.1186/s12284-021-00490-z>
- Wang C, Qin TF, Yu HM, et al (2014a) The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant Pathol* 15:333–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12092>

- Wang C, Wen G, Lin X, et al (2009) Identification and fine mapping of the new bacterial blight resistance gene, Xa31(t), in rice. *Eur J Plant Pathol* 123:235–240. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9356-4>
- Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015a) XA23 Is an executor protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>
- Wang D, Pan Y, Zhao X, et al (2011) Genome-wide temporal-spatial gene expression profiling of drought responsiveness in rice. *BMC Genomics* 2011 12:1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-149>
- Wang G, Ding X, Yuan M, et al (2006) Dual function of rice OsDR8 gene in disease resistance and thiamine accumulation. *Plant Mol Biol* 60:437–449. <https://doi.org/10.1007/S11103-005-4770-X>
- Wang G, Roux B, Feng F, 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. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2015.08.004>
- Wang JJ, Hu M, Wang JJ, et al (2019a) Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science* (80-) 364:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAV5870>
- Wang JJ, Wang JJ, Hu M, et al (2019b) Ligand-triggered allosteric ADP release primes a plant NLR complex. *Science* (80-) 364:. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAV5868>
- Wang L, Rinaldi FC, Singh P, et al (2017) TAL Effectors Drive Transcription Bidirectionally in Plants. *Mol Plant* 10:285–296. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.12.002>
- Wang L, Zhao L, Zhang X, et al (2019c) Large-scale identification and functional analysis of NLR genes in blast resistance in the Tetep rice genome sequence. *Proc Natl Acad Sci* 116:18479–18487. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1910229116>
- Wang M, Yu Y, Haberer G, et al (2014b) The genome sequence of African rice (*Oryza glaberrima*) and evidence for independent domestication. *Nat Genet* 46:982–988. <https://doi.org/10.1038/ng.3044>
- Wang T, Si M, Song Y, et al (2015c) Type VI Secretion System Transports Zn²⁺ to Combat Multiple Stresses and Host Immunity. *PLOS Pathog* 11:e1005020. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1005020>
- Weaver LM, Swiderski MR, Li Y, Jones JDG (2006) The Arabidopsis thaliana TIR-NB-LRR R-protein, RPP1A; protein localization and constitutive activation of defence by truncated alleles in tobacco and Arabidopsis. *Plant J* 47:829–840. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2006.02834.X>
- Webb KM, Oña I, Bai J, et al (2010) A benefit of high temperature: increased effectiveness of a rice bacterial blight disease resistance gene. *New Phytol* 185:568–576. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2009.03076.X>

- Wei X, Liu F, Chen C, et al (2014) The *Malus domestica* sugar transporter gene family: identifications based on genome and expression profiling related to the accumulation of fruit sugars. *Front Plant Sci* 0:569. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00569>
- Wichmann G, Bergelson J (2004) Effector Genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* Promote Transmission and Enhance Other Fitness Traits in the Field. *Genetics* 166:693–706. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/166.2.693>
- Williams SJ, Sornaraj P, deCourcy-Ireland E, et al (2011) An Autoactive Mutant of the M Flax Rust Resistance Protein Has a Preference for Binding ATP, Whereas Wild-Type M Protein Binds ADP. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-03-11-0052> 24:897–906. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-11-0052>
- Willmann R, Lajunen HM, Erbs G, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112862108>
- Wing RA, Ammiraju JSS, Luo M, et al (2005) The *Oryza* map alignment project: The golden path to unlocking the genetic potential of wild rice species. *Plant Mol Biol* 59:53–62. <https://doi.org/10.1007/s11103-004-6237-x>
- Wonni I, Detemmerman L, Dao S, et al (2011) Genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* from West Africa — ILVO. <https://pureportal.ilvo.be/nl/publications/genetic-diversity-of-emxanthomonas-oryzae-empv-emoryzicolaem-from>. Accessed 14 Aug 2021
- Wood DW, Setubal JC, Kaul R, et al (2001) The Genome of the Natural Genetic Engineer *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* (80-) 294:2317–2323. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1066804>
- Wu L, Mei LG, Sreekala C, 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. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123356>
- Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x>
- Xiao J, Cheng H, Li X, et al (2013) Rice WRKY13 regulates cross talk between abiotic and biotic stress signaling pathways by selective binding to different cis-elements. *Plant Physiol* 163:1868–1882. <https://doi.org/10.1104/PP.113.226019>
- Xiao J, Grandlillo S, Sang Nag Ahn, et al (1996) Genes from wild rice improve yield. *Nature* 384:223–224. <https://doi.org/10.1038/384223a0>
- Xiao W, Liu H, Li Y, et al (2009) A rice gene of de novo origin negatively regulates pathogen-induced defense response. *PLoS One* 4:. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0004603>
- Xie Z, Nolan TM, Jiang H, Yin Y (2019) AP2/ERF transcription factor regulatory networks in hormone and abiotic stress responses in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 10:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00228>

- Xu D, Xue Q, McElroy D, et al (1996) Constitutive expression of a cowpea trypsin inhibitor gene, CpTi, in transgenic rice plants confers resistance to two major rice insect pests. *Mol Breed* 1996 22 2:167–173. <https://doi.org/10.1007/BF00441431>
- Yamada K, Yamaguchi K, Shirakawa T, et al (2016) The Arabidopsis CERK1-associated kinase PBL27 connects chitin perception to MAPK activation. *EMBO J* 35:2468–2483. <https://doi.org/10.15252/EMBJ.201694248>
- Yamaguchi K, Yamada K, Ishikawa K, et al (2013) A receptor-like cytoplasmic kinase targeted by a plant pathogen effector is directly phosphorylated by the chitin receptor and mediates rice immunity. *Cell Host Microbe* 13:347–357. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.02.007>
- Yamaguchi Y, Huffaker A, Bryan AC, et al (2010) PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in Arabidopsis. *Plant Cell* 22:508–522. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.068874>
- Yamaguchi Y, Pearce G, Ryan CA (2006) The cell surface leucine-rich repeat receptor for AtPep1, an endogenous peptide elicitor in Arabidopsis, is functional in transgenic tobacco cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10104–10109. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603729103>
- Yan H, Zhao Y, Shi H, et al (2018) BRASSINOSTEROID-SIGNALING KINASE1 Phosphorylates MAPKKK5 to Regulate Immunity in Arabidopsis. *Plant Physiol* 176:2991–3002. <https://doi.org/10.1104/PP.17.01757>
- Yang B, Bogdanove A (2013) Inoculation and Virulence Assay for Bacterial Blight and Bacterial Leaf Streak of Rice. *Methods Mol Biol* 956:249–255. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-194-3_18
- Yang B, Sugio A, White FF (2006) Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10503–10508. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604088103>
- Yang B, Zhu W, Johnson LB, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.170286897>
- Yang H, Gou X, He K, et al (2010) BAK1 and BKK1 in Arabidopsis thaliana confer reduced susceptibility to turnip crinkle virus. *Eur J Plant Pathol* 2010 1271 127:149–156. <https://doi.org/10.1007/S10658-010-9581-5>
- Yang JW, Yi HS, Kim H, et al (2011) Whitefly infestation of pepper plants elicits defence responses against bacterial pathogens in leaves and roots and changes the below-ground microflora. *J Ecol* 99:46–56. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01756.x>
- Yang Y, Feyter R De, Gabriel DW (1994) Host-Specific Symptoms and Increased Release of *Xanthomonas citri* and *X. campestris* pv. *malvacearum* from Leaves Are Determined by the 102-bp Tandem Repeats of *pthA* and *avrB6*, Respectively. *American Phytopathological Society*

- Yang Y, Gabriel DW (1995) Intragenic recombination of a single plant pathogen gene provides a mechanism for the evolution of new host specificities. *J Bacteriol* 177:4963–4968. <https://doi.org/10.1128/JB.177.17.4963-4968.1995>
- Yeats TH, Rose JKC (2013) The Formation and Function of Plant Cuticles. *Plant Physiol* 163:5–20. <https://doi.org/10.1104/PP.113.222737>
- Yonemaru JI, Ebana K, Yano M (2014) HapRice, an SNP haplotype database and a web tool for rice. *Plant Cell Physiol* 55:e9–e9. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct188>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Yoshimura S, Yoshimura A, Iwata N, et al (1995) Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers. *Mol Breed* 1:375–387. <https://doi.org/10.1007/BF01248415>
- Yu J, Hu S, Wang J, et al (2002) A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica). *Science* (80-) 296:79–92. <https://doi.org/10.1126/science.1068037>
- Yuan M, Jiang Z, Bi G, et al (2021) Pattern-recognition receptors are required for NLR-mediated plant immunity. *Nat* 2021 5927852 592:105–109. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03316-6>
- Yuan M, Ke Y, Huang R, et al (2016) A host basal transcription factor is a key component for infection of rice by TALE-carrying bacteria. *Elife* 5:. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.19605>
- Yue J-X, Meyers BC, Chen J-Q, et al (2012) Tracing the origin and evolutionary history of plant nucleotide-binding site–leucine-rich repeat (NBS-LRR) genes. *New Phytol* 193:1049–1063. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2011.04006.X>
- Yun MH, Torres PS, Oirdi M El, et al (2006) Xanthan Induces Plant Susceptibility by Suppressing Callose Deposition. *Plant Physiol* 141:178–187. <https://doi.org/10.1104/PP.105.074542>
- Zaka A, Grande G, Coronejo T, et al (2018) Natural variations in the promoter of OsSWEET13 and OsSWEET14 expand the range of resistance against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *PLoS One* 13:e0203711. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0203711>
- Zeng ZB (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136:1457–1468. <https://doi.org/10.1093/genetics/136.4.1457>
- Zhai J, Jeong DH, de Paoli E, et al (2011) MicroRNAs as master regulators of the plant NB-LRR defense gene family via the production of phased, trans-acting siRNAs. *Genes Dev* 25:2540–2553. <https://doi.org/10.1101/gad.177527.111>
- Zhang B, Zhang H, Li F, et al (2020) Multiple Alleles Encoding Atypical NLRs with Unique Central Tandem Repeats in Rice Confer Resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Commun* 1:. <https://doi.org/10.1016/J.XPLC.2020.100088>

- Zhang F, Zhuo D-L, Zhang F, et al (2015) Xa39, a novel dominant gene conferring broad-spectrum resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice. *Plant Pathol* 64:568–575. <https://doi.org/10.1111/PPA.12283>
- Zhang G, Chen M, Li L, et al (2009) Overexpression of the soybean GmERF3 gene, an AP2/ERF type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco. *J Exp Bot* 60:3781–3796. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp214>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>
- Zhang J, Shao F, Li Y, et al (2007) A *Pseudomonas syringae* Effector Inactivates MAPKs to Suppress PAMP-Induced Immunity in Plants. *Cell Host Microbe* 1:175–185. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2007.03.006>
- Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>
- Zhang L, Li H, Wang J (2012) The Statistical Power of Inclusive Composite Interval Mapping in Detecting Digenic Epistasis Showing Common F2 Segregation Ratios. *J Integr Plant Biol* 54:270–279. <https://doi.org/10.1111/J.1744-7909.2012.01110.X>
- Zhang Q, Chen Q, Wang S, et al (2014) Rice and cold stress: methods for its evaluation and summary of cold tolerance-related quantitative trait loci. *Rice* 2014 71 7:1–12. <https://doi.org/10.1186/S12284-014-0024-3>
- Zhang Q, Liang Z, Cui X, et al (2018) N6-Methyladenine DNA Methylation in Japonica and Indica Rice Genomes and Its Association with Gene Expression, Plant Development, and Stress Responses. *Mol Plant* 11:1492–1508. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2018.11.005>
- Zhang Y, Xia R, Kuang H, Meyers BC (2016) The Diversification of Plant NBS-LRR Defense Genes Directs the Evolution of MicroRNAs That Target Them. *Mol Biol Evol* 33:2692–2705. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSW154>
- Zhao H, Yao W, Ouyang Y, et al (2015) RiceVarMap: A comprehensive database of rice genomic variations. *Nucleic Acids Res* 43:D1018–D1022. <https://doi.org/10.1093/nar/gku894>
- Zheng CK, WANG CL, YU YJ, et al (2009) Identification and Molecular Mapping of Xa32(t), a Novel Resistance Gene for Bacterial Blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) in Rice. *Acta Agron Sin* 35:1173–1180. [https://doi.org/10.1016/S1875-2780\(08\)60089-9](https://doi.org/10.1016/S1875-2780(08)60089-9)
- Zhou J, Peng Z, Long J, et al (2015) Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. *Plant J* 82:632–643. <https://doi.org/10.1111/tpj.12838>
- Zhou Y, Yang P, Cui F, et al (2016) Transcriptome Analysis of Salt Stress Responsiveness in the Seedlings of Dongxiang Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *PLoS One* 11:e0146242. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0146242>

- Zhu S, Li Y, Vossen JH, et al (2012) Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Res* 21:89–99. <https://doi.org/10.1007/s11248-011-9510-1>
- Zhu W, Yang B, Chittoor JM, et al (1998) AvrXa10 contains an acidic transcriptional activation domain in the functionally conserved C terminus. *Mol Plant-Microbe Interact* 11:824–832. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.8.824>
- Zipfel C (2014) Plant pattern-recognition receptors. *Trends Immunol* 35:345–351. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.05.004>
- Zipfel C, Kunze G, Chinchilla D, et al (2006) Perception of the Bacterial PAMP EF-Tu by the Receptor EFR Restricts Agrobacterium-Mediated Transformation. *Cell* 125:749–760. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.03.037>
- Zipfel C, Oldroyd GED (2017) Plant signalling in symbiosis and immunity. *Nature* 543:328–336
- Zou M, Guan Y, Ren H, et al (2008) A bZIP transcription factor, OsABI5, is involved in rice fertility and stress tolerance. *Plant Mol Biol* 66:675–683. <https://doi.org/10.1007/S11103-008-9298-4>
- Zuo KJ, Qin J, Zhao JY, et al (2007) Over-expression GbERF2 transcription factor in tobacco enhances brown spots disease resistance by activating expression of downstream genes. *Gene* 391:80–90. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2006.12.019>
- Zvereva AS, Golyaev V, Turco S, et al (2016) Viral protein suppresses oxidative burst and salicylic acid-dependent autophagy and facilitates bacterial growth on virus-infected plants. *New Phytol* 211:1020–1034. <https://doi.org/10.1111/NPH.13967>

ii) Discussion

- Albar L, Lorieux M, Ahmadi N, et al (1998) Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus. I. QTLs identification and relationship between resistance and plant morphology. *Theor Appl Genet* 1998 977 97:1145–1154. <https://doi.org/10.1007/S001220051003>
- Andersen EJ, Nepal MP (2019) Diversification of Disease Resistance Receptors by Integrated Domain Fusions in Wheat and its Progenitors. *bioRxiv* 695148. <https://doi.org/10.1101/695148>
- Antony G, Zhou J, Huang S, 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- Athinuwat D, Prathuangwong S, Cursino L, Burr T (2009) *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* soybean cultivar virulence specificity is determined by avrbs3 homolog avrXgl. *Phytopathology* 99:996–1004. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-8-0996>

- Baggs E, Dagdas G, Krasileva K V. (2017) NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR IDentity. *Curr Opin Plant Biol* 38:59–67.
<https://doi.org/10.1016/J.PBI.2017.04.012>
- Ballvora A, Pierre M, Van den Ackerveken G, et al (2001) Genetic mapping and functional analysis of the tomato Bs4 locus governing recognition of the *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* AvrBs4 protein. *Mol Plant-Microbe Interact* 14:629–638.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.5.629>
- Barragan CA, Wu R, Kim ST, et al (2019) RPW8/HR repeats control NLR activation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet* 15:e1008313. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008313>
- Barrett LG, Thrall PH, Dodds PN, et al (2009) Diversity and Evolution of Effector Loci in Natural Populations of the Plant Pathogen *Melampsora lini*. *Mol Biol Evol* 26:2499–2513.
<https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSP166>
- Batut P, Gingeras TR (2013) RAMPAGE: Promoter Activity Profiling by Paired-End Sequencing of 5'-Complete cDNAs. *Curr Protoc Mol Biol* 104:25B.11.1-25B.11.16.
<https://doi.org/10.1002/0471142727.MB25B11S104>
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* (80-) 326:1509–1512.
<https://doi.org/10.1126/science.1178811>
- Bogdanove AJ, Voytas DF (2011) TAL effectors: Customizable proteins for DNA targeting. *Science* (80-) 333:1843–1846. <https://doi.org/10.1126/science.1204094>
- Bonas U, Conrads-Strauch J, Balbo I (1993) Resistance in tomato to *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* is determined by alleles of the pepper-specific avirulence gene *avrBs3*. *Mol Gen Genet MGG* 1993 2381 238:261–269. <https://doi.org/10.1007/BF00279555>
- Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989) Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *MGG Mol Gen Genet* 218:127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Brown JKM (2015) Durable Resistance of Crops to Disease: A Darwinian Perspective.
<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045914> 53:513–539.
<https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-102313-045914>
- Cernadas RA, Doyle EL, Niño-Liu DO, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003972>
- Cesari S, Bernoux M, Moncuquet P, et al (2014) A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: The “integrated decoy” hypothesis. *Front Plant Sci* 5:606.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00606>
- Chae E, Bomblies K, Kim ST, et al (2014) Species-wide Genetic Incompatibility Analysis Identifies Immune Genes as Hot Spots of Deleterious Epistasis. *Cell* 159:1341–1351.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.10.049>

- Chen S, Huang Z, Zeng L, et al (2008) High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae* resistance gene Xa7. *Mol Breed* 2008 223 22:433–441. <https://doi.org/10.1007/S11032-008-9187-1>
- Chen X, Liu P, Mei L, et al (2021) Xa7, a new executor R gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice. *Plant Commun* 2:100143. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100143>
- Chu Z, Fu B, Yang H, et al (2006) Targeting xa13, a recessive gene for bacterial blight resistance in rice. *Theor Appl Genet* 112:455–461. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0145-6>
- Cook A, Guevara Y (1984) Hypersensitivity in *Capsicum chacoense* to race 1 of the bacterial spot pathogen of pepper
- Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ (2013) Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* (80-) 341:746–751. <https://doi.org/10.1126/science.1236011>
- Denancé N, Szurek B, Doyle EL, et al (2018) Two ancestral genes shaped the *Xanthomonas campestris* TAL effector gene repertoire. *New Phytol* 219:391–407. <https://doi.org/10.1111/nph.15148>
- Dong S, Stam R, Cano LM, et al (2014) Effector Specialization in a Lineage of the Irish Potato Famine Pathogen. *Science* (80-) 343:552–555. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1246300>
- Doyle EL, Booher NJ, Standage DS, et al (2012) TAL Effector-Nucleotide Targeter (TALE-NT) 2.0: Tools for TAL effector design and target prediction. *Nucleic Acids Res* 40:W117–W122. <https://doi.org/10.1093/nar/gks608>
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2021) Epigenetic features improve TALE target prediction. *bioRxiv* 2021.06.14.448323
- Erkes A, Mücke S, Reschke M, et al (2019) PrediTAL: A novel model learned from quantitative data allows for new perspectives on TALE targeting. *Public Library of Science*
- Erkes A, Reschke M, Boch J, Grau J (2017) Evolution of transcription activator-like effectors in *Xanthomonas oryzae*. *Genome Biol Evol* 9:1599–1699. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx108>
- Escolar L, Van Den Ackerveken G, Pieplow S, et al (2001) Type III secretion and in planta recognition of the *Xanthomonas* avirulence proteins AvrBs1 and AvrBsT. *Mol Plant Pathol* 2:287–296. <https://doi.org/10.1046/j.1464-6722.2001.00077.x>
- Ferreira RM, de Oliveira ACP, Moreira LM, et al (2015) A TALE of Transposition: Tn3-like transposons play a major role in the spread of pathogenicity determinants of *xanthomonas citri* and other *xanthomonads*. *MBio* 6:. <https://doi.org/10.1128/MBIO.02505-14>
- Flor HH (1971) Current status of the gene-for-gene concept. 275–296
- Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al (2007) Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa. *Mol Plant-Microbe Interact* 20:534–546. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534>

- González VM, Müller S, Baulcombe D, Puigdomènech P (2015) Evolution of NBS-LRR Gene Copies among Dicot Plants and its Regulation by Members of the miR482/2118 Superfamily of miRNAs. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.013>
- Grau J, Boch J, Posch S (2013) TALENoffer: genome-wide TALEN off-target prediction. *Bioinformatics* 29:2931–2932. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTT501>
- Gu K, Yang B, Tian D, et al (2005) R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/nature03630>
- Gururani MA, Venkatesh J, Upadhyaya CP, et al (2012) Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiol Mol Plant Pathol* 78:51–65. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2012.01.002>
- Hopkins C, White F, Choi S, et al (1992) Hopkins 1992.pdf. *Mol Plant Microbe Interact* 5:451–459. <https://doi.org/10.1094/MPMI-5-451>
- Hu K, Cao J, Zhang J, et al (2017) Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance gene via cell wall reinforcement. *Nat Plants* 3:. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.9>
- Hu Y, Zhang J, Jia H, et al (2014) Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E521–E529. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313271111>
- Huang L, Brooks S, Li W, et al (2009) Evolution of New Disease Specificity at a Simple Resistance Locus in a Crop–Weed Complex: Reconstitution of the Lr21 Gene in Wheat. *Genetics* 182:595–602. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.108.099614>
- Huerta AI, Delorean EE, Bossa-Castro AM, et al (2021) Resistance and susceptibility QTL identified in a rice MAGIC population by screening with a minor-effect virulence factor from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Biotechnol J* 19:51–63. <https://doi.org/10.1111/pbi.13438>
- Hutin M, Sabot F, Ghesquière A, et al (2015) A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J* 84:694–703. <https://doi.org/10.1111/tpj.13042>
- Ji C, Ji Z, Liu B, et al (2020) Xa1 Allelic R Genes Activate Rice Blight Resistance Suppressed by Interfering TAL Effectors. *Plant Commun* 1:100087. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100087>
- Ji Z, Ji C, Liu B, et al (2016) Interfering TAL effectors of *Xanthomonas oryzae* neutralize R-gene-mediated plant disease resistance. *Nat Commun* 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13435>
- Jiang GH, Xia ZH, Zhou YL, et al (2006) Testifying the rice bacterial blight resistance gene xa5 by genetic complementation and further analyzing xa5 (Xa5) in comparison with its homolog TFIIAγ1. *Mol Genet Genomics* 275:354–366. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0091-7>
- Jordan T, Römer P, Meyer A, et al (2006) Physical delimitation of the pepper Bs3 resistance gene specifying recognition of the AvrBs3 protein from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Theor Appl Genet* 113:895–905. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0349-4>

- Kay S, Boch J, 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. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0838>
- Kim NH, Choi HW, Hwang BK (2010) *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Effector AvrBsT Induces Cell Death in Pepper, but Suppresses Defense Responses in Tomato. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-23-8-1069> 23:1069–1082. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-8-1069>
- Kim S, Park J, Yeom S-I, et al (2017) New reference genome sequences of hot pepper reveal the massive evolution of plant disease-resistance genes by retroduplication. *Genome Biol* 2017 18:1–11. <https://doi.org/10.1186/S13059-017-1341-9>
- Krattinger SG, Keller B (2016) Molecular genetics and evolution of disease resistance in cereals. *New Phytol* 212:320–332. <https://doi.org/10.1111/NPH.14097>
- Lachaux M, Thomas E, Bogdanove AJ, et al (2021) TAL effectors with avirulence activity in African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *bioRxiv* 2021.10.21.465293. <https://doi.org/10.1101/2021.10.21.465293>
- Leister D (2004) Tandem and segmental gene duplication and recombination in the evolution of plant disease resistance genes. *Trends Genet* 20:116–122. <https://doi.org/10.1016/J.TIG.2004.01.007>
- Li F, Pignatta D, Bendix C, et al (2012) MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:1790–1795. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118282109>
- Li P, Long J, Huang Y, et al (2004) AvrXa3 : A novel member of avrBs3 gene family from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* has a dual function. *Prog Nat Sci* 14:774–780. <https://doi.org/10.1080/10020070412331344311>
- Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al (2011) A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ* 34:1958–1969. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02391.X>
- Long J, Song C, Yan F, et al (2018) Non-TAL effectors from *xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* suppress peptidoglycan-triggered MAPK activation in rice. *Front Plant Sci* 871:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01857>
- Lu X, Kracher B, Saur IML, et al (2016) Allelic barley MLA immune receptors recognize sequence-unrelated avirulence effectors of the powdery mildew pathogen. *Proc Natl Acad Sci* 113:E6486–E6495. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1612947113>
- Luo D, Huguet-Tapia JC, Raborn RT, et al (2021) The Xa7 resistance gene guards the rice susceptibility gene SWEET14 against exploitation by the bacterial blight pathogen. *Plant Commun* 2:100164. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100164>
- Luu DD, Joe A, Chen Y, et al (2019) Biosynthesis and secretion of the microbial sulfated peptide RaxX and binding to the rice XA21 immune receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116:8525–8534. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818275116>

- M'Barek S Ben, Karisto P, Fakhfakh M, et al (2019) Improved control of *Septoria tritici* blotch in durum wheat using cultivar mixtures. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/664078>
- Mago R, Zhang P, Vautrin S, et al (2015) The wheat Sr50 gene reveals rich diversity at a cereal disease resistance locus. *Nat Plants* 2015 112 1:1–3. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.186>
- McDonald BA, Linde C (2002a) Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:349–379
- McDonald BA, Linde C (2002b) The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica* 2002 1242 124:163–180. <https://doi.org/10.1023/A:1015678432355>
- Mesarich CH, Bowen JK, Hamiaux C, Templeton MD (2015) Repeat-containing protein effectors of plant-associated organisms. *Front Plant Sci* 0:872. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00872>
- Minsavage G V. (1990) Gene-For-Gene Relationships Specifying Disease Resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* - Pepper Interactions. *Mol Plant-Microbe Interact* 3:41. <https://doi.org/10.1094/MPMI-3-041>
- Mondragon-Palomino M, Gaut BS (2005) Gene Conversion and the Evolution of Three Leucine-Rich Repeat Gene Families in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Biol Evol* 22:2444–2456. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSI241>
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* (80-) 326:1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Mundt CC (2002) Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:381–410
- Osdaghi E, Jones JB, Sharma A, et al (2021) A centenary for bacterial spot of tomato and pepper. *Mol Plant Pathol* 22:1500–1519. <https://doi.org/10.1111/mpp.13125>
- Pérez-Quintero AL, Rodríguez-R LM, Dereeper A, 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:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068464>
- Perez-Quintero AL, Szurek B (2019) A Decade Decoded: Spies and Hackers in the History of TAL Effectors Research. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100026> 57:459–481. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-082718-100026>
- Poland JA, Balint-Kurti PJ, Wisser RJ, et al (2009) Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci.* 14:21–29
- Ponciano G, Webb K, Bai J, et al (2004) Molecular characterization of the *avrXa7* locus from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* field isolates. *Physiol Mol Plant Pathol* 64:145–153. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.08.001>
- Popov G, Fraiture M, Brunner F, Sessa G (2016) Multiple *Xanthomonas euvesicatoria* Type III Effectors Inhibit *flg22*-Triggered Immunity. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R> 29:651–660. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0137-R>

- Porter BW, Chittoor JM, Yano M, et al (2003) Development and mapping of markers linked to the rice bacterial blight resistance gene Xa7. John Wiley & Sons, Ltd
- Potnis N, Minsavage G, Smith JK, et al (2012) Avirulence Proteins AvrBs7 from *Xanthomonas gardneri* and AvrBs1.1 from *Xanthomonas euvesicatoria* Contribute to a Novel Gene-for-Gene Interaction in Pepper. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0205> 25:307–320. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0205>
- Pruitt RN, Schwessinger B, Joe A, et al (2015) The rice immune receptor XA21 recognizes a tyrosine-sulfated protein from a Gram-negative bacterium. *Sci Adv* 1:e1500245. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500245>
- Raborn RT, Brendel VP (2019) Using RAMPAGE to Identify and Annotate Promoters in Insect Genomes. *Methods Mol Biol* 1858:99–116. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8775-7_9
- Read A, Moscou M, Zimin A, et al (2020) Genome assembly and characterization of a complex zfBED-NLR gene-containing disease resistance locus in Carolina Gold Select rice with Nanopore sequencing. *Genome Assem Charact a complex zfBED-NLR gene-containing Dis Resist locus Carolina Gold Sel rice with Nanopore Seq* 675678. <https://doi.org/10.1101/675678>
- Read AC, Rinaldi FC, Hutin M, et al (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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516>
- Ri CH, Phe S, Fere Nc E RM, et al (2018) Recent advances in the understanding of *Xanthomonas citri* ssp. *citri* pathogenesis and citrus canker disease management. *Mol Plant Pathol* 19:1302–1318. <https://doi.org/10.1111/MPP.12638>
- Roeschlin RA, Uviedo F, García L, 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. <https://doi.org/10.1111/mpp.12844>
- Römer P, Hahn S, Jordan T, et al (2007) Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science* (80-) 318:645–648. <https://doi.org/10.1126/science.1144958>
- Ronald PC, Staskawicz BJ (1988) The avirulence gene *avrBs1* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* encodes a 50-kD protein. *Mol Plant Microbe Interact* 1:191–198. <https://doi.org/10.1094/MPMI-1-191>
- Roux F, Voisin D, Badet T, et al (2014) Resistance to phytopathogens e tutti quanti: Placing plant quantitative disease resistance on the map. *Mol Plant Pathol* 15:427–432. <https://doi.org/10.1111/MPP.12138>
- Ruh M, Briand M, Bonneau S, et al (2017) *Xanthomonas* adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors. *BMC Genomics* 18:670. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4087-6>

- Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, et al (2003) Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theor Appl Genet* 106:794–803. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1088-9>
- Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al (2008) Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics* 2008 91 9:1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Schandry N, Jacobs JM, Szurek B, Perez Quintero AL (2018) A cautionary TALE: how plant breeding may have favoured expanded TALE repertoires in *Xanthomonas*. *Mol Plant Pathol* 19:1297. <https://doi.org/10.1111/MPP.12670>
- Schornack S, Ballvora A, Gürlebeck D, 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. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01937.x>
- Schornack S, Minsavage G V., Stall RE, et al (2008) Characterization of AvrHah1, a novel AvrBs3-like effector from *Xanthomonas gardneri* with virulence and avirulence activity. *New Phytol* 179:546–556. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2008.02487.X>
- Serra H, Choi K, Zhao X, et al (2018) Interhomolog polymorphism shapes meiotic crossover within RAC1 and RPP13 disease resistance genes. *bioRxiv* 290478. <https://doi.org/10.1101/290478>
- Shivaprasad P V., Chen HM, Patel K, et al (2012) A microRNA superfamily regulates nucleotide binding site-leucine-rich repeats and other mRNAs. *Plant Cell* 24:859–874. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.095380>
- Song W-YY, Wang G-LL, Chen L-LL, et al (1995) A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, Xa21. *Science* (80-) 270:1804. <https://doi.org/10.1126/science.270.5243.1804>
- St.clair DA (2010) Quantitative disease resistance and quantitative resistance loci in breeding. *Annu Rev Phytopathol* 48:247–268. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081904>
- Stall RE, Jones JB, Minsavage G V. (2009) Durability of Resistance in Tomato and Pepper to *Xanthomonas* Causing Bacterial Spot. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081752> 47:265–284. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYTO-080508-081752>
- Stam R, Scheikl D, Tellier A (2016) Pooled Enrichment Sequencing Identifies Diversity and Evolutionary Pressures at NLR Resistance Genes within a Wild Tomato Population. *Genome Biol Evol* 8:1501–1515. <https://doi.org/10.1093/GBE/EVW094>
- Stam R, Silva-Arias GA, Tellier A (2019) Subsets of NLR genes show differential signatures of adaptation during colonization of new habitats. *New Phytol* 224:367–379. <https://doi.org/10.1111/NPH.16017>
- Strauß T, Van Poecke RMP, Strauß A, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212415109>

- Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al (2013) Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol* 200:808–819. <https://doi.org/10.1111/nph.12411>
- Sugio A, Yang B, Zhu T, White FF (2007) Two type III effector genes of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* control the induction of the host genes *OsTFIIA γ 1* and *OsTFX1* during bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:10720–10725. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701742104>
- Sun X, Cao Y, Yang Z, et al (2004) *Xa26*, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J* 37:517–527. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01976.x>
- Sun X, Yang Z, Wang S, Zhang Q (2003) Identification of a 47-kb DNA fragment containing *Xa4*, a locus for bacterial blight resistance in rice. *Theor Appl Genet* 106:683–687. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1117-8>
- Tai TH, Dahlbeck D, Clark ET, et al (1999) Expression of the *Bs2* pepper gene confers resistance to bacterial spot disease in tomato. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:14153–14158. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.24.14153>
- Tian D, Wang J, Zeng 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. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255>
- Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, et al (2018) Functional analysis of African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice. *PLoS Pathog* 14:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092>
- Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger 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. <https://doi.org/10.1111/tpj.13212>
- Vallejos CE, Jones V, Stall RE, et al (2010) Characterization of two recessive genes controlling resistance to all races of bacterial spot in peppers. *Theor Appl Genet* 121:37–46. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1289-6>
- Van de Weyer AL, Monteiro F, Furzer OJ, et al (2019) A Species-Wide Inventory of NLR Genes and Alleles in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 178:1260-1272.e14. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.07.038>
- Vaughan DA, Lu BR, Tomooka N (2008) The evolving story of rice evolution. *Plant Sci* 174:394–408. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.01.016>
- Vera Cruz CM, Bai J, Oña I, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.250271997>
- Verdier V, Triplett LR, Hummel AW, et al (2012) Transcription activator-like (TAL) effectors targeting *OsSWEET* genes enhance virulence on diverse rice (*Oryza sativa*) varieties when

expressed individually in a TAL effector-deficient strain of *Xanthomonas oryzae*. *New Phytol* 196:1197–1207. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2012.04367.X>

- Wang C, Chen S, Feng A, et al (2021) Xa7, a Small Orphan Gene Harboring Promoter Trap for AvrXa7, Leads to the Durable Resistance to *Xanthomonas oryzae* P.v. *oryzae*. *Rice* 14:48. <https://doi.org/10.1186/s12284-021-00490-z>
- Wang C, Zhang X, Fan Y, et al (2015) XA23 Is an executor r protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant* 8:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.010>
- Wang L, Rinaldi FC, Singh P, et al (2017) TAL Effectors Drive Transcription Bidirectionally in Plants. *Mol Plant* 10:285–296. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.12.002>
- Wichmann G, Bergelson J (2004) Effector Genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* Promote Transmission and Enhance Other Fitness Traits in the Field. *Genetics* 166:693–706. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/166.2.693>
- Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al (2006) Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet* 113:1347–1355. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0388-x>
- Yang B, Sugio A, White FF (2005) Avoidance of host recognition by alterations in the repetitive and C-terminal regions of AvrXa7, a type III effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant-Microbe Interact* 18:142–149. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0142>
- Yang B, Sugio A, White FF (2006) Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10503–10508. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604088103>
- Yang B, Zhu W, Johnson LB, White FF (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. <https://doi.org/10.1073/pnas.170286897>
- Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al (1998) Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1663–1668. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1663>
- Yu Y, Streubel J, Balzergue S, 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* 24:1102–1113. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254>
- Zhai J, Jeong DH, de Paoli E, et al (2011) MicroRNAs as master regulators of the plant NB-LRR defense gene family via the production of phased, trans-acting siRNAs. *Genes Dev* 25:2540–2553. <https://doi.org/10.1101/gad.177527.111>
- Zhang J, Li X, Jiang G, et al (2006) Pyramiding of Xa7 and Xa21 for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed* 125:600–605. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2006.01281.X>

- Zhang J, Yin Z, White F (2015) TAL effectors and the executor R genes. *Front Plant Sci* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00641>
- Zhang Y, Wang J, Pan J, et al (2009) Identification and molecular mapping of the rice bacterial blight resistance gene allelic to Xa7 from an elite restorer line Zhenhui 084. *Eur J Plant Pathol* 125:235–244. <https://doi.org/10.1007/S10658-009-9478-3/TABLES/4>
- Zhang Y, Xia R, Kuang H, Meyers BC (2016) The Diversification of Plant NBS-LRR Defense Genes Directs the Evolution of MicroRNAs That Target Them. *Mol Biol Evol* 33:2692–2705. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSW154>
- Zhou J, Peng Z, Long J, et al (2015) Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. *Plant J* 82:632–643. <https://doi.org/10.1111/tpj.12838>
- Zhou J, Yang B (2015) Host target genes of the *Xanthomonas oryzae* pv . *oryzae* type III effectors for bacterial blight in rice
- Zhu S, Li Y, Vossen JH, et al (2012) Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Res* 21:89–99. <https://doi.org/10.1007/s11248-011-9510-1>
- Zou HS, Zhao WX, Zhang XF, et al (2010) Identification of an avirulence gene, *avrxa5*, from the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Sci China Life Sci* 2010 53:1440–1449. <https://doi.org/10.1007/S11427-010-4109-Y>