



**HAL**  
open science

# Phenotypic plasticity and adaptive potential under abiotic stresses in the phytopathogenic fungus *Fusarium graminearum*

Antoine Vajou

► **To cite this version:**

Antoine Vajou. Phenotypic plasticity and adaptive potential under abiotic stresses in the phytopathogenic fungus *Fusarium graminearum*. Genetics. Université de Bordeaux, 2023. English. NNT : 2023BORD0391 . tel-04461235

**HAL Id: tel-04461235**

**<https://theses.hal.science/tel-04461235>**

Submitted on 16 Feb 2024

**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 PRÉSENTÉE  
POUR OBTENIR LE GRADE DE  
**DOCTEUR DE**  
**L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX**

ÉCOLE DOCTORALE Science de la vie et de la santé

Spécialité : Génétique

Par Antoine Vajou

Plasticité phénotypique et potentiel adaptatif chez le  
champignon phytopathogène *Fusarium graminearum*  
en réponse aux changements environnementaux

Sous la direction de Marie Foulongne-Oriol

Soutenu le 12 décembre 2023,

Membres du jury :

|                           |  |                     |
|---------------------------|--|---------------------|
| M. Saupe Sven             | Directeur de recherche, CNRS (IBGC)      | Président du jury   |
| Mme Walker Anne-Sophie    | Ingénieure de recherche, INRAE           | Rapportrice         |
| M. Lemaire Christophe     | Maître de conférences, Université Angers | Rapporteur          |
| Mme Robin Cécile          | Directrice de recherche, INRAE           | Examinatrice        |
| M. Silar Philippe         | Professeur, Université de Paris          | Examinateur         |
| Mme Foulongne-Oriol Marie | Chargée de recherche, INRAE              | Directrice de thèse |



## Table des matières

|  |    |
|--|----|
| Publications et communications scientifiques.....                              | 10 |
| Listes des Figures et des tableaux .....                                       | 11 |
| Listes des abréviations : .....  | 15 |
| Préambule :.....   | 17 |
| Avant-propos.....  | 20 |
| Sources génétiques du potentiel adaptatif et plasticité génomique .....        | 21 |
| 1. La mutation .....   | 21 |
| 2. La migration .....  | 23 |
| 3. La dérive génétique .....   | 23 |
| 4. La sélection naturelle .....  | 24 |
| La plasticité phénotypique : source d'un potentiel adaptatif insoupçonné ..... | 25 |
| 1. Présentation du sujet.....  | 25 |
| 2. Plasticité phénotypique : mécanismes, outils et exemples .....              | 26 |
| a) Bases conceptuelles .....   | 26 |
| b) Méthodes d'études : GxE et quantification .....                             | 27 |
| 3. Plasticité phénotypique et adaptation de la norme de réaction .....         | 32 |
| a) Plasticité adaptative et maladaptative.....                                 | 32 |
| b) Coûts et limites de la plasticité phénotypique .....                        | 33 |
| c) Plasticité transgénérationnelle .....                                       | 35 |
| d) Bases génétiques de la plasticité phénotypique .....                        | 36 |
| 4. Plasticité phénotypique et champignons .....                                | 38 |
| a) Morphologie et physiologie.....   | 38 |
| b) Caractérisation de la variance phénotypique expliquée .....                 | 39 |
| c) Plasticité phénotypique des populations de champignons.....                 | 41 |
| d) Les prémices de l'architecture génétique de la plasticité phénotypique..... | 42 |
| <i>Fusarium graminearum</i> phytopathogène de renommée internationale .....    | 44 |

|    |   |     |
|----|---|-----|
| 1. | Histoire de <i>Fusarium</i> .....   | 44  |
| 2. | Cycle de vie et vie de l'infection de <i>Fusarium graminearum</i> .....   | 45  |
|    | a) Cycle de vie <i>Fusarium graminearum</i> .....   | 45  |
|    | b) La fusariose de l'épi de blé.....  | 47  |
| 3. | Méthodes de luttés contre la fusariose .....  | 48  |
|    | a) Pratiques culturales.....  | 48  |
|    | b) Choix variétaux.....   | 48  |
|    | c) Actions antifongiques .....  | 49  |
|    | d) Méthodes alternatives .....  | 50  |
| 4. | Les mycotoxines : préoccupation majeure et réglementation .....   | 50  |
|    | a) Caractéristiques chimiques des toxines fusariennes .....   | 50  |
|    | b) La voie de biosynthèse des TCTB .....  | 51  |
|    | c) Préoccupation et réglementation .....  | 52  |
| 5. | Génomique à propos de <i>Fusarium graminearum</i> .....   | 53  |
|    | a) Généralité sur le génome .....   | 53  |
|    | b) Plasticité génomique et potentiel adaptatif .....  | 55  |
|    | c) Régulation par l'environnement / Senseur de l'environnement .....  | 57  |
|    | Objectifs de la thèse .....   | 64  |
|    | Chapitre 1 : Plasticité Phénotypique .....  | 66  |
|    | 1. Introduction .....   | 66  |
|    | 2. Article : Phenotypic plasticity in the fungal pathogen <i>Fusarium graminearum</i> is involved in the adaptive response to changing environments ..... | 67  |
|    | 3. Discussion complémentaire à l'article .....  | 117 |
|    | 4. Compléments d'analyse .....  | 119 |
|    | a) Etude de la variabilité du phénotype chez 103 souches de <i>F. graminearum</i> selon la concentration en azote minéral .....                           | 119 |
|    | b) Occurrence de signaux métaboliques sur les chromatogrammes d'HPLC.....   | 126 |
|    | 5. Conclusion :.....  | 130 |

|   |     |
|---|-----|
| 6. Figures et tables supplémentaires.....   | 131 |
| Chapitre 2 : Evolution Expérimentale .....  | 136 |
| 1. Introduction .....   | 136 |
| 2. Article : Maintaining of <i>Fusarium graminearum</i> genome integrity under temperature variation: lessons from Evolve and Resequence experiment ..... | 137 |
| 3. Complément d'analyses .....  | 174 |
| 4. Conclusion.....  | 176 |
| Discussion générale et perspectives .....   | 178 |
| 1. La plasticité phénotypique comme agent d'adaptation potentiel de <i>F. graminearum</i>   | 178 |
| a) Vers une vision plus holistique de la plasticité phénotypique chez <i>F. graminearum</i>   | 179 |
| b) La plasticité phénotypique serait sous un déterminisme génétique (ou non) complexe   | 181 |
| c) La plasticité phénotypique jouerait un rôle dans la relation hôte pathogène.....   | 182 |
| 2. La plasticité génomique comme agent d'adaptation potentiel de <i>F. graminearum</i> ...  | 186 |
| a) Le génome de <i>F. graminearum</i> serait-il si peu plastique ?.....   | 187 |
| b) L'environnement utilisé ne serait pas assez « stressant » pour générer et sélectionner des mutations ?.....  | 188 |
| Conclusion générale .....   | 190 |
| Bibliographie.....  | 191 |





Vincent Van Gogh *Champs de blé aux corbeaux* (1890)

Huile sur toile, 50,5 x 100,5cm, Musée Van Gogh Amsterdam



## Remerciements :

J'aimerais tout d'abord remercier ma directrice de thèse, Marie Foulongne-Oriol. L'encadrement est un travail dont le résultat se voit sur le long terme et je pense que, grâce à toi, j'ai su évoluer (en m'adaptant ? Disposerais-je, moi aussi, d'un potentiel adaptatif ?). Tu as su me transmettre ton savoir scientifique et ta patience face aux problèmes qui semblaient parfois insolubles. Tu as su faire face aux avalanches d'idées, d'hypothèses et de conjectures qui me caractérisent si bien. Je te remercie aussi pour la relecture méticuleuse de chaque chapitre et paragraphe que composent ce manuscrit, tout en m'ayant permis de préciser sans aucun doute mes propos. Je te suis reconnaissant d'avoir pu réaliser cette thèse à tes côtés, sur un sujet qui me semblait très fondamental mais qui est finalement bien plus que cela.

Je souhaite également remercier vivement la directrice de l'unité, Florence Richard-Forget. Pour votre accueil dans l'unité, pour votre soutien et votre proximité. Je n'oublierai ni la science, ni les journées à vendanger ! Merci d'avoir recoloré les journées parfois pluvieuses à MycSA.

J'adresse aussi mes remerciements à Jean-Michel Savoie, Nadia Ponts, Stéphane Bernillon, Vessela Atanasova-Penichon, Louis Carles, Laetitia Pinson-Gadais, Fabien Dumetz, et Anne Goubet pour les moments passés à échanger autour d'une table ou d'un café, à parlementer de science entre autres choses, à disséquer la biologie afin de mieux comprendre les enjeux intellectuels qui vous animent. J'adresse une mention spéciale pour Louis qui a su me supporter dans le même bureau, pendant les derniers mois de thèse, en échange de quelques madeleines et carrés de chocolats.

J'exprime tous mes remerciements aux techniciennes de ce laboratoire, piliers importants : Nathalie Gallegos, Christine Ducos, Marie-Noëlle Bonnin-Verdal, Magalie Moinard. Je remercie Nathalie pour ton aide pour les extractions de toxines, toujours dans la musique et la discussion permanente. Je me souviendrai de nos dégustations parfois incroyables au club œnologique de l'INRAE ! Je remercie aussi Christine de m'avoir formé pour la BM dans ce laboratoire glacial lorsqu'il n'y a pas de chauffage. Je te remercie sincèrement pour ces moments passés ensemble à discuter et à travailler tout de même ! C'était aussi un véritable plaisir de découvrir la région avec toi. Merci à toi Marie-Noëlle pour ta bonne humeur, tes savoirs indispensables en biochimie sans quoi les HPLC ne fonctionneraient pas. Je suis aussi ravi d'avoir pu découvrir ton domaine viticole et ta passion pour le vin ! Enfin, Magalie, je te remercie sincèrement pour tous les

moments de travail acharné que nous avons réalisé ensemble sous ce PSM trop froid en hiver et trop chaud en été. Ton aide a été si précieuse, sans elle, ces travaux de recherche ne seraient pas autant aboutis. C'était un véritable plaisir de travailler avec toi !

Je tiens à remercier Thomas Dumartinet, pour ton aide précieuse sur la bio-informatique et la génétique d'association qui me semblaient bien vagues avant.

Je remercie Nils Hocquemiller pour avoir été un excellent stagiaire avec un joie de vivre communicative, si pertinent et efficace.

J'adresse des remerciements aux gestionnaires de l'unité, Corine Grimaldi et Marie-France Neveux qui ont su m'aider dans l'immensité des tâches administratives, surtout lorsque je risquais de rester bloquer entre quatre montagnes à Innsbruck !

Bien sûr, je remercie tout particulièrement les autres collègues-étudiants en thèse et amis au sein de l'unité MycSA. Nous avons tant partagé au cours de ces trois dernières années. Des premiers souvenirs à discuter avec Valentin après mon entretien pour obtenir cette thèse, aux moments les plus forts de rire et de joie au laboratoire avec Jean-Marie mais aussi à l'extérieur, à un mariage par exemple, (n'est-ce pas Aurélie ?) ont fait passer ces trois années très rapidement. Marie-Anne, à toi, je veux te dire à quel point j'ai aimé nos moments de rire, nos moments de sieste bien cachés derrière les écrans d'ordinateurs, nos moments à parler, parler et encore parler. Tu as réussi à me motiver quand il le fallait, pour aller au bar évidemment ! Je suis heureux d'avoir partagé ces trois années avec vous tous !

Evidemment, j'ai une pensée pour *Les Michel's* membres du groupe Mich Mich Forever et Thomas !

Je souhaite garder un mot de remerciement pour ma famille. Un immense merci à mes parents, Patricia et Jean-Louis, à ma sœur, Aurélie, qui m'ont soutenu depuis le début dans ces études et qui au quotidien ont su attiser ma curiosité du monde.

C'est sur ces dernières lignes que je souhaite remercier tous les membres du jury d'avoir pris le temps d'évaluer ce travail et ainsi permis une riche soutenance !

## Publications et communications scientifiques

### Articles scientifiques :

Vajou A., Dumartinet T., Moinard M., R. Valade, Foulongne-Oriol M.: Phenotypic plasticity in the fungal pathogen *Fusarium graminearum* is involved in the adaptive response to changing environments. (Soumis à Molecular Ecology)

Vajou A\*, Dumartinet T\*, Moinard M., Foulongne-Oriol M.: Maintaining of *Fusarium graminearum* genome integrity under temperature variation: lessons from Evolve and Resequencing experiment. (En préparation)

### Communications orales :

Vajou A., Dumartinet T., Moinard M., Foulongne-Oriol M. (2023). Phenotypic plasticity and adaptive potential under abiotic stresses in the phytopathogenic fungus *Fusarium graminearum*. 16th European Conference on Fungal Genetics, Innsbruck, Austria

Foulongne-Oriol M., Vajou A., Moinard M., Dumartinet T (2023) Evolve and Resequencing approach in the phytopathogenic fungus *Fusarium graminearum*: from concept to proof of concept? 16th European Conference on Fungal Genetics, Innsbruck, Austria

Vajou A., Moinard M., Foulongne-Oriol M. (2022) Plasticité phénotypique et potentiel adaptatif sous des conditions environnementales abiotiques chez le champignon phytopathogène *Fusarium graminearum*– Colloque des 9ème Journée Mycotoxines, Marseille, France

Vajou A., Moinard M., Foulongne-Oriol M. (2022) Phenotypic plasticity and adaptive potential under abiotic stresses in the phytopatogenic fungus *Fusarium graminearum*. Journées des doctorants SPE (Santé des Plantes et Environnement), Bordeaux, France

Vajou A., Moinard M., Foulongne-Oriol M. (2021) Etude de la plasticité phénotypique et de son déterminisme génétique chez le champignon phytopathogène *Fusarium graminearum* en réponse au changement environnementaux. Journées du réseau E3GP3 (visio)

## Listes des Figures et des tableaux

Figure 1 : Schéma de toutes les substitutions nucléotidiques possibles.

Figure 2 : Schéma montrant les événements d'aneuploïdie et de perte d'hétérozygotie (LOH) chez des diploïdes et haploïdes. Chaque individu a 7 chromosomes distincts colorés en bleu ou jaune montrant l'hétérozygotie.

Figure 3 : Plasticité morphologique chez différents organismes. A gauche, les défenses des daphnies. Les exemples répertoriés montrent l'expression du casque chez *D. cucullata* (A) expression de dents au niveau du cou chez *D. pulex* (B) ; expression d'une crête chez *D. longicephala* (C) ; formation d'épines sur la tête et la queue chez *D. lumholtzi* (D). Les morphotypes sans présence de prédateurs sont affichés à gauche et le morphotype avec prédateurs, à droite. Sur la partie droite de la Figure, la morphologie de la *Rorippa aquatica* montre une hétérophylie distincte entre les feuilles émergées et immergées (barre = 1cm). Ici l'altération des feuilles est aussi induite par la modification de la température ambiante.

Figure 4 : Equation de la variance phénotypique et normes de réactions. Pour chaque génotype (=couleurs), le phénotype du caractère étudié est mesuré et représenté par les points, eux-mêmes reliés pour former les normes de réactions

Figure 5 : Normes de réaction théoriques (A) linéaire, (B) quadratique, (C) logistique et observées pour la (D) pigmentation du thorax de *Drosophila simulans* en fonction de la température ainsi que pour (E) la vitesse et la linéarité du déplacement de *Tetrahymena thermophila* en fonction de la température et de la concentration en nutriments. Pour l'équation de (A),  $P_a$  est la valeur moyenne du caractère,  $E_a$  est la valeur moyenne de l'environnement,  $g_1$  est la pente. Pour (B),  $P_m$  est la valeur phénotypique maximum ou minimum (ici minimum par rapport à la courbe),  $E_m$  est l'environnement correspondant et  $g_2$  est la courbure de la norme de réaction. Pour (C),  $E_i$  est l'environnement au point d'inflexion,  $P_m$  et  $P_M$  sont les valeurs phénotypiques aux asymptotes minimales et maximales,  $S$  est la pente au point d'inflexion. Adapté de Gibert et al., 1998 et de Morel-Journel et al., 2020.

Figure 6 : *F. graminearum* (INRA156) vue macroscopique de dessus après 4 jours de culture à 25°C (A) et à 30°C (B) sur milieu PDA (Crédit photo INRAE – MycSA).

Figure 7 : Cycle de vie de *F. graminearum*.

Figure 8 : Schéma illustrant l'anatomie de l'épi de blé et des connexions vasculaires en bleue (A) entre les épillets voisins. (B) Illustration schématique du cheminement de l'infection fongique au cours du temps au début, au milieu et à la fin. (C) Symptôme de la fusariose de l'épi où la contamination de blé par *F. graminearum* présente une décoloration et une atrophie des épis infectés (crédit photo MycSA).

Figure 9 : Structures chimiques des trichothécènes de type A et B. La différence principale entre les TCTA et les TCTB résulte en la présence d'une fonction chimique cétone en C8 pour les TCTB.

Figure 10 : Voie de biosynthèse proposée des trichothécènes chez *Fusarium*. Les gènes codant pour une étape enzymatique sont identifiés à proximité de la flèche indiquant l'étape. Les flèches pointillées indiquent les étapes pour lesquelles aucun gène n'a été attribué. La boîte verte identifie les trichothécènes de type B.

Figure 11 : Table avec annotation des gènes du cluster TRI et organisation sur le cluster de gène chez *Fusarium graminearum*, d'après l'annotation de la souche PH1, exploitée sur FungiDB.

Figure 12 : Motifs associés aux facteurs de transcription retrouvés au sein du cluster de gène Tri. Les flèches vertes représentent les gènes codant des facteurs de régulation du cluster TRI, *FgTri6* et *FgTri10*. Les motifs de type triangle, losange et cercle représentent les différentes séquences consensus de fixation des différents facteurs de transcriptions agissant sur le cluster TRI.

Figure 13 : Diagramme en violon avec les boîtes à moustaches montrant la distribution complète des données pour chaque caractère et chaque condition pour l'environnement concentration en azote (E4).

Figure 14 : Proportion de variance ( $\eta^2$  « êta au carré ») expliquée par chaque composante de la variance phénotypique : Condition (Contrôle ou traitée), Génotype, leur interaction CxG et la variance résiduelle, pour chaque caractère dans l'environnement E4.

Figure 15 : Classement des individus selon le rang moyen des génotypes pour les variables de plasticité phénotypique calculées pour le phénotype toxine (Violet : Biomasse, Rouge : TCTB, Vert : Ratio, Bleu : ADON, Orange : DON) et le phénotype cinétique (Violet : VITESSE, Rouge : AUC, Vert : ASYM, Bleu : Latence, Orange : OD\_4D). Les classements ont été calculés lorsqu'il y a, au moins, 3 valeurs. Un rang le plus élevé signifie un niveau de plasticité phénotypique le plus élevé.

Figure 16 : Corrélation des rangs du niveau de plasticité phénotypique. Les lignes pointillées rouges et bleues représentent respectivement les 75e et 90e quantiles. Le ruban gris représente l'intervalle de confiance (IC) à 95%.

Figure 17 : Spectres DAD issus des différents signaux d'un chromatogramme classés par temps de rétention, présentant l'absorbance du pic de chromatographie en fonction de la longueur d'onde. (A) signal Unk\_3444, (B) signal d'une molécule de TCTB (DON ou ADON) dont ici seul le temps de rétention permet de séparer ces deux molécules. Ce spectre ayant un pic à 220nm est caractéristique des TCTB. (C) signal Unk\_5333.

Figure 18 : Diagramme en violon avec les boîtes à moustaches montrant la distribution complète des données des signaux Unk\_3444 (A) et Unk\_5333 (B), dans chaque condition des environnements E1 et E2. (C) Proportion de variance ( $\eta^2$  « êta au carré ») expliquée par chaque composante de la variance phénotypique : Condition (Contrôle ou traitée), Génotype, leur interaction CxG et la variance résiduelle, pour les deux caractères dans les deux environnements. Les normes de réaction (D) pour tous les caractères avec la moyenne représentée par la ligne noire épaisse.

Figure 19 : Normes de réaction entre générations du caractère TCTB pour les quatre cultures.

Figure 20 : Les différents conditions environnementales employées lors de l'étude remis dans le contexte du cycle infectieux de *F. graminearum*. Quatre environnements sont représentés : la température ( $\Theta^\circ$ ), la disponibilité en eau (AW), le stress oxydatif (ROS (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)), et la concentration en azote

Figure supplémentaire 1 : Normes de réaction et densité de distribution pour tous les caractères. La ligne noire épaisse représente la moyenne.

Tableau 1 : Teneurs maximales en DON dans les denrées alimentaires à base de céréales et de maïs (Journal officiel de l'Union européenne, annexe du règlement (CE) n°2023/915 de la commission du 25 avril 2023)

Tableau 2 : Statistiques descriptives liées aux performances phénotypiques des 103 souches de *F. graminearum* utilisées dans la présente étude, pour les 10 caractères mesurés dans les deux conditions de l'environnement E4.

Tableau 3 : Statistiques descriptives liées à la plasticité phénotypique des 103 souches de *F. graminearum* utilisées dans la présente étude, pour les 10 caractères mesurés dans les deux conditions de l'environnement E4.

Tableau 4 : Liste des SNP significativement associés aux caractères liés à la plasticité. 'Chromosome' fait référence au nom du chromosome sur le génome de référence pH1 VGCA\_900044135.1 (King et al. 2015), 'Position' est la position du SNP sur le chromosome, 'REF' est l'allèle de référence, 'ALT' est l'allèle alternatif, 'n' est le nombre d'individus génotypés, 'Allèle 1' et 'Allèle 2' sont la fréquence de chaque allèle, 'PVE%' est le pourcentage de variation phénotypique expliqué, 'SNP annotation' est l'effet de substitution allélique selon l'analyse SNPEff, 'Gene ID' sont le nom du gène putativement impacté, 'Description du produit' est la description du produit génique selon l'annotation du génome pH1 VGCA\_900044135.1 publiée le 16/03/2021 (King et al. 2017).

Tableau 5 : Analyse de variance pour les données de la norme de réaction de la variable TCTB comprenant les facteurs (Génération 1 et 19, Culture SA/SV/TSV), les degrés de libertés (Df), la somme des carrés (Sum Sq), la moyenne des carrés (Mean Sq), la valeur du test F (F value) et la valeur p (Pr(>F)) au seuil de  $\alpha=0.05$ .

Tableau 6 : Statistiques descriptives liées à la plasticité phénotypique de la norme de réaction du caractère TCTB des 103 souches de *F. graminearum*.

Table supplémentaire 1 : Analyse de variance du modèle 1 (voir article) comprenant dans le tableau (A) la valeur de lambda pour le coefficient BoxCox, Df pour les degrés de liberté des différents facteurs : Génotype (G), Condition (C) et effets d'interaction CxG. Shapiro Wilk teste pValue (Shapiro\_pval) et Levene teste la pvalue (Levene\_pval) des résidus pour la normalité et l'homogénéité de la variance respectivement, le R carré ajusté par rapport aux facteurs du modèle (R<sup>2</sup>-ajusté). Le tableau (B) présente les valeurs de moyenne des carrés, de sommes des carrés, de la valeur statistique F et de la valeur p pour les des différents facteurs et les résidus (R).

Tableau supplémentaire 2 : Statistiques descriptives liées aux performances phénotypiques des 103 souches de *F. graminearum* utilisées dans la présente étude, pour les deux signaux métaboliques (Unk\_3444 et Unk\_5333) dans les deux environnements (E1 et E2).

Tableau supplémentaire 3 : Analyse de variance du modèle 1 (voir article) comprenant dans le tableau (A) la valeur de lambda pour le coefficient BoxCox, Df pour les degrés de liberté des différents facteurs : Génotype (G), Condition (C) et effets d'interaction CxG. Shapiro Wilk teste pValue (Shapiro\_pval) et Levene teste la pvalue (Levene\_pval) des résidus pour la normalité et l'homogénéité de la variance respectivement, le R carré ajusté par rapport aux facteurs du modèle (R<sup>2</sup>-ajusté). Le tableau (B) présente les valeurs de moyenne des carrés, de sommes des carrés, de la valeur statistique F et de la valeur p pour les des différents facteurs et les résidus (R).

Table supplémentaire 4 : Statistiques descriptives liées à la plasticité phénotypique de la norme de réaction des 103 souches de *F. graminearum* pour les deux signaux métaboliques (Unk\_3444 et Unk\_5333) dans les deux environnements (E1 et E2).

Table supplémentaire 5 : Analyse de variance du modèle 2 (voir article) des deux signaux métaboliques (Unk\_3444 et Unk\_5333) dans les deux environnements (E1 et E2). Le tableau (A) résume la valeur de lambda pour le coefficient BoxCox, Df pour les degrés de liberté du facteur Génotype (G) et des résidus. Shapiro Wilk teste pValue (Shapiro\_pval) et Levene teste la pvalue (Levene\_pval) des résidus pour la normalité et l'homogénéité de la variance respectivement, le R carré ajusté par rapport aux facteurs du modèle (R<sup>2</sup>-ajusté). Le tableau (B) présente les valeurs de moyenne des carrés, de sommes des carrés, de la valeur statistique F et de la valeur p pour le facteur Genotype et les résidus (Residuals).

## Listes des abréviations :

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**ADON** : Acetyldéoxynivalenol

**Asym** : Asymptote horizontale maximale

**AUC** : Area under the curve (aire sous la courbe)

**BLINK** : Bayesian-information and Linkage-disequilibrium Iteratively Nested Keyway

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**DON** : Déoxynivalenol

**E1** : Environnement température

**E2** : Environnement oxydatif

**E3** : Environnement hydrique

**E4** : Environnement azote

**F<sub>st</sub>** : Indice de fixation (mesure de différenciation des populations à partir du polymorphisme génétique)

**GWAS** : Genome Wide Association Study (étude d'association pangénomique)

**HA** : « Home versus Away », contrastes d'adaptation locale

**Interaction GxE** : Interaction génotype par environnement

**LF** : « Local versus Foreign », contrastes d'adaptation locale

**OD\_4D** : Optical density 4 days (densité optique à 4 jours de culture)

**PDA** : Potato dextrose agar (gélose dextrosée à la pomme de terre)

**QTL** : Quantitative Trait Loci (locus à caractère quantitatif)

**RIP** : Repeat Induce Point [mutation] ([Mutation] ponctuelle induite par répétition)

**ROS** : Reactive Oxygen Species (espèces réactives de l'oxygène)

**SA** : Lignée évoluée à 25°C, propagation asexuée

**SNP** : Single Nucleotide Polymorphisme (polymorphisme nucléotidique simple)

**Speed** : Vitesse de croissance

**SV** : Lignée évoluée à 25°C, propagation par repiquage de mycélium

**TCTB** : Trichotécènes de type B

**TSA** : Lignée évoluée à 30°C, propagation asexuée

**TSV** : Lignée évoluée à 30°C, propagation par repiquage de mycélium





## Préambule :

Le potentiel adaptatif d'une espèce aux changements environnementaux est lié à sa capacité d'évolution génétique liée elle-même aux différentes forces évolutives et à la plasticité phénotypique des individus dans la population. La vitesse d'adaptation, l'amplitude et la persistance des changements dépendent fortement du rôle relatif de ces deux composantes, celles-ci n'étant pas exclusives. La plasticité phénotypique, pour sa part, a longtemps été considérée comme une nuisance car elle induit des modifications non voulues du phénotype. En 2003, Mary Jane West-Eberhard, biologiste, théoricienne de la plasticité développementale et phénotypique a homogénéisé et reformulé les définitions actuelles de la plasticité phénotypique en précisant que dans certaines circonstances celle-ci pourrait entraîner des changements évolutifs précédents les changements génétiques dans la population.

Les travaux de recherches présentés dans ce manuscrit rassemblent de la connaissance autour d'un important sujet qui est le potentiel adaptatif, menés ici chez *Fusarium graminearum*. Ce champignon phytopathogène est un des agents majoritaires responsables de la fusariose des épis des céréales, notamment le blé. Cette infection conduit à des pertes de rendement au champ ainsi qu'à une contamination des grains par des métabolites fongiques toxiques pour l'homme et l'animal appelés mycotoxines. La lutte contre la fusariose de l'épi et l'accumulation de mycotoxines dans les grains de céréales est un enjeu agronomique et sanitaire majeur à l'échelle mondiale. C'est aussi dans le contexte du changement climatique, déjà constaté au cours des dernières décennies et vouées à des transformations encore plus importantes à l'avenir, que cette thèse s'inscrit. Le changement d'environnement impactant les cultures céréalières peut également modifier grandement la dynamique des populations d'agent pathogènes et provoquer l'émergence de nouvelles épidémies. Le lecteur trouvera dans cette thèse une approche *in vitro* d'étude de la plasticité phénotypique à l'échelle individuelle sur une collection de souches. Ensuite, une approche d'association pangénomique sera utilisée permettant de définir les déterminismes génétiques et moléculaires sous-jacents cette plasticité phénotypique observée. Il sera aussi question d'étudier le potentiel adaptatif génétique de *F. graminearum* probablement mis en œuvre lors d'une modification de l'environnement.



**Introduction**

**Bibliographique**

## Avant-propos

« Après avoir été repoussé à deux reprises par de violents vents du sud-ouest, le navire de Sa Majesté Beagle, un brick<sup>1</sup> de dix canons, sous le commandement du capitaine Fitz Roy, R.N., quitta Devonport<sup>2</sup> le 27 décembre 1831. L'objet de l'expédition était d'achever l'étude de la Patagonie et de la Terre de Feu, commencée sous le capitaine King de 1826 à 1830, d'étudier les côtes du Chili, du Pérou et de certaines îles du Pacifique, et d'effectuer une chaîne de mesures chronométriques autour du monde » (Darwin, 1913).

L'aventure de Charles Darwin à bord du HMS beagle lors d'une expédition autour du monde jusqu'en octobre 1836 se révélera être un voyage d'une importance capitale dans l'Histoire de la science. Au cours de ce voyage, Charles Darwin élabore sa théorie de la sélection naturelle qui étudie l'adaptation des espèces à leur milieu. Il publiera en 1859, la première des six éditions de son livre : *L'origine des espèces*. Parmi l'ensemble des théories discutées dans ce livre, notamment celle de la sélection naturelle, Charles Darwin expose ses observations et déductions en lien avec les variations naturelles et les effets de l'environnement. Ces théories originales pour l'époque proposent une origine individuelle, c'est-à-dire génétique (la variation à l'état de nature), et des variations liées à l'environnement (les lois de la variation) pour expliquer les variations phénotypiques des individus. Charles Darwin évoque aussi la notion d'acclimatation en proposant une adaptation physiologique de l'organisme<sup>3</sup> par modification du métabolisme, dont le point final est la sélection des individus les mieux adaptés. C'est sur cette base que naquit la théorie de l'évolution des espèces devenant au cours du XXème, la théorie moderne de l'évolution ou théorie synthétique de l'évolution<sup>4</sup>.

Lié au contexte de changement climatique au XXIème siècle, notamment avec une augmentation des températures ou avec une pluviométrie plus abondante, la capacité d'adaptation pour la survie et la pérennité des organismes est un objet de recherche essentiel. Cela concernerait particulièrement les organismes pathogènes et phytopathogènes afin de mieux anticiper les risques épidémiques liés à l'émergence de nouveaux isolats adaptés. Si l'adaptation est le lien entre une population d'individus et son environnement, c'est aussi par définition un caractère, sélectionné par le passé, car il augmentait la valeur adaptative de

---

<sup>1</sup> Voilier à deux mâts.

<sup>2</sup> District de la ville de Plymouth dans le comté de Devon au sud-ouest de l'Angleterre.

<sup>3</sup> Darwin prit pour exemple des plantes ou animaux exotiques importés des colonies.

<sup>4</sup> C'est une synthèse des lois de Mendel (Gregor Mendel, XVIIIème siècle) sur les principes de l'hérédité et des lois de la génétique des populations sur la distribution et des changements de fréquences des allèles dans une population.

l'individu. L'adaptation est le processus qui permet de passer du caractère adaptatif (portée par quelques individus) à une adaptation (caractère porté par l'ensemble des individus de la population). En outre, la capacité d'adaptation d'une population par la variation de fréquence allélique ainsi que par la plasticité phénotypique, déterminerait quelles espèces survivraient face à des modifications environnementales, liées de plus en plus à des influences anthropiques.

## Sources génétiques du potentiel adaptatif et plasticité génomique

Les individus, et par extension, les populations peuvent répondre aux changements environnementaux par modification du génotype afin de produire un phénotype adapté à l'environnement. Dans cette partie, nous allons décrire les différentes forces évolutives en lien avec le potentiel adaptatif d'un organisme.

### 1. La mutation

La ou les mutations sont des modifications rares du matériel génétique qui peuvent être distinguée en 3 grandes classes : les substitutions nucléotidiques, les insertions et délétions de quelques nucléotides et les remaniements génétiques de grande taille. L'apparition de ces mutations permet d'augmenter la diversité allélique et donc d'augmenter la diversité génétique observée dans les populations. Par exemple, les SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) sont des positions d'une seule paire de base dans la séquence d'ADN génomique au niveau de laquelle des allèles peuvent exister entre différents individus d'une même espèce. Ces SNPs peuvent être des polymorphismes bi-, tri-, ou tétra-allélique au vu des 4 bases nucléotidiques existant. On peut distinguer des nuances dans ces substitutions nucléotidiques en fonction de la base échangée : les transitions (remplacement d'une base pyrimidique (C ou T) ou purique (A ou G) par une autre base de même nature) et les transversions (remplacement d'une base purique par une base pyrimidique, ou inversement) (Figure 1). Il existe ainsi 2 fois plus de transversions que de transitions. Ces mutations peuvent subvenir aléatoirement au cours de la réplication de l'ADN ou sont produites à la suite d'exposition à des agents mutagènes (chimique ou physique) présent dans l'environnement (Kreutzer and Essigmann, 1998). Cependant, la théorie neutraliste de l'évolution moléculaire formalisée par Motoo Kimura entre les années

1960 et 1980 (Kimura, 1991, 1968) précise que les mutations n'ont que peu d'influence sur la valeur sélective des individus. Aussi, Kimura indique que les substitutions de bases synonymes au sein des codons (pas de changement en acide-aminé de la protéine) se produisent à un rythme d'évolution plus élevé que les substitutions altérant les acides aminés (Kimura, 1986, 1989). Le devenir de ces mutations est, d'après Kimura, influencé par la dérive génétique.

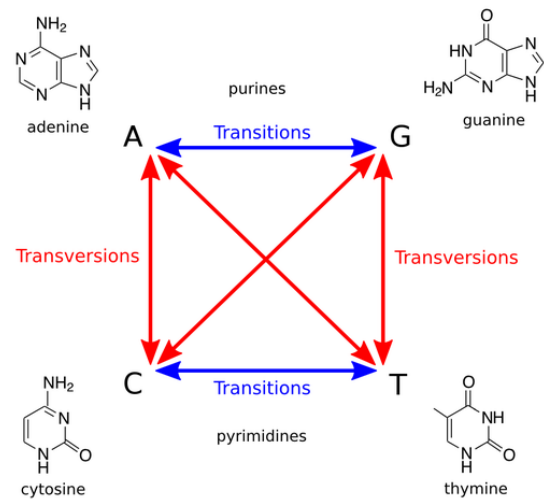


Figure 1 : Schéma de toutes les substitutions nucléotidiques possibles.

D'autres réarrangements au niveau du génome entier comme l'aneuploïdie et la perte d'hétérozygotie (LOH en anglais) peuvent être la source de diversité génétique et une probable stratégie d'adaptation, généralement induit par des conditions environnementales spécifiques comme la présence d'antifongiques chez les champignons (Tsai and Nelliati, 2019).

L'aneuploïdie est une caractéristique d'une cellule qui possède un nombre anormal de chromosomes (Figure 2). L'aneuploïdie a été recensée dans des souches de *Candida albicans* isolées de patients atteints de candidoses sous traitement antifongiques (Selmecki et al., 2006), chez *Cryptococcus neoformans* notamment dans le cadre de la reproduction unisexuelle (Fu et al., 2015; Ni et al., 2013). Ces différentes études ont montré que ces variations génétiques sont responsables par exemple de sensibilité à la température, d'une augmentation de la production de facteur de virulence chez *C. neoformans*. La perte d'hétérozygotie se traduit lorsqu'un organisme diploïde, aneuploïde ou polyploïde perd cette caractéristique par croisement laissant

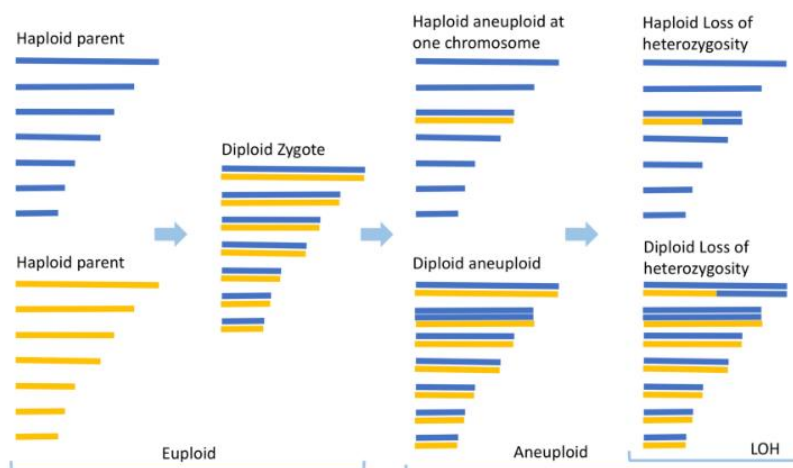


Figure 2 : Schéma montrant les événements d'aneuploïdie et de perte d'hétérozygotie (LOH) chez des diploïdes et haploïdes. Chaque individu a 7 chromosomes distincts colorés en bleu ou jaune montrant l'hétérozygotie (Taylor et al., 2017).

une portion d'un chromosome homologue génétiquement identique. Chez *C. albicans*, la perte d'hétérozygotie se produisant généralement après recombinaison mitotique, induit l'expression du phénotype récessif de résistance à un antifongique de type azolé (Dunkel et al., 2008).

## 2. La migration

Le concept de migration dans la théorie de l'évolution peut se définir comme étant une partie d'une population d'une espèce allant fonder une nouvelle population ou faire référence aux flux de gènes entre plusieurs populations préexistantes. Le déplacement des individus ou des gamètes et le transfert de segments d'ADN (mitochondries, plasmides) peuvent être considéré comme de la migration, synonyme de flux génétique entre populations établies. Ici, nous prendrons exemple des flux de gènes entre deux populations où de nouveaux variants génétiques peuvent être importés d'une population à l'autre induisant de la diversité génétique et phénotypique (Tigano and Friesen, 2016). Le flux de gènes est un mécanisme très largement répandu chez les bactéries favorisant les adaptations aux antibactériens notamment (pénicilline), probablement à l'origine de l'occupation de nouvelles niches écologiques (Wiedenbeck and Cohan, 2011). Ce mécanisme a été retrouvé assez largement chez les champignons, notamment dans les transferts de clusters de gènes impliqués dans la biosynthèse de toxines chez *Aspergillus nidulans* et *Aspergillus flavus* retrouvés chez *Podospora anserina* (Slot and Rokas, 2011), également entre *Botrytis cinerea* et *Fusarium oxysporum* (Campbell et al., 2013). C'est aussi un moyen d'adaptation à différents environnements ou à des hôtes différents comme le montrent certaines données sur des transferts entre oomycètes et champignons (Richards et al., 2011).

## 3. La dérive génétique

La dérive génétique est responsable des modifications de fréquences alléliques d'une génération à l'autre par un effet d'échantillonnage aléatoire des gènes dans une population parentale à une population fille (Kimura, 1968; Masel, 2011). La dérive agit de manière indifférente sur tous les variants. Dans une population de grande taille (dite de taille « infinie »), fermée à la migration et non soumise à la sélection, les fréquences alléliques sont stables d'une génération à l'autre. On dit que cette force évolutive dépend de la taille efficace ( $N_e$ ) de la population. Cette taille efficace de la population est souvent plus petite que la taille de la population réelle. La dérive génétique peut donc diminuer la variabilité génétique d'une petite population. A cela s'ajoutent des probables effets de goulots d'étranglements par diminution de la taille efficace de la population. La dérive génétique est un facteur d'évolution observé notamment dans des populations naturelles. Les pressions de sélection exercées par l'environnement peuvent



conduire à une dérive génétique plus ou moins importante comme montré chez le phytopathogène *Rhynchosporium commune* (Stefansson et al., 2014). La dérive génétique est aussi repérée lors des expériences d'évolution expérimentale ou lors d'exposition de champignons à des fongicides en diminuant la taille des populations (Kelkar and Ochman, 2012; Walker et al., 2017).

#### 4. La sélection naturelle

La sélection naturelle, décrite par Charles Darwin en 1859 est la quatrième force évolutive agissant sur les espèces et les populations. La sélection naturelle favorise la survie et la reproduction des individus ayant une valeur sélective (ou fitness) la plus importante. Si la sélection s'effectue sur les individus (au travers de leur phénotype), l'action de la sélection s'estime au niveau du génotype des individus. La sélection peut être de quatre modes : stabilisante, diversifiante, directionnelle ou équilibrante. La sélection stabilisante va favoriser les phénotypes moyens aux dépens de phénotypes extrêmes au contraire de la sélection diversifiante favorisant les valeurs extrêmes des caractères phénotypiques en réduisant les intermédiaires (ou valeurs moyennes). La sélection directionnelle favorise un phénotype extrême et élimine toutes les variations génétiques qui ne concourent pas à la production du phénotype<sup>5</sup> qui peut se réaliser par recombinaison ou dans les populations de petites tailles par auto-stop génétique<sup>6</sup>. Enfin, la sélection équilibrante dont la théorie<sup>7</sup> suggère que la variation génétique est maintenue dans la population par sélection. Plusieurs causes peuvent être à l'origine de cette sélection comme l'avantage d'allèles hétérozygotes par rapport aux homozygotes pouvant maintenir un phénotype délétère dans la population ou dans un environnement qui fluctue régulièrement la possession des deux allèles devient avantageuse dans plusieurs environnements (Delph and Kelly, 2014). Ces types de sélection peuvent affecter ou non des séquences d'ADN codantes ou non-codantes (Rech et al., 2014).

---

<sup>5</sup> Réduction du polymorphisme génétique.

<sup>6</sup> Augmentations de la fréquence d'un allèle par liaison génétique avec un autre gène positivement sélectionné.

<sup>7</sup> Issu de Theodosius Dobjansky.

# La plasticité phénotypique : source d'un potentiel adaptatif insoupçonné

## 1. Présentation du sujet

L'observation des caractères biologiques d'un organisme varie, d'une part, en fonction de l'environnement dans lequel est soumis l'organisme et d'autre part, de son fond génétique. Ces variations naturelles individuelles influencées par l'environnement sont appelées plasticité phénotypique. C'est la capacité d'un individu ayant un génotype donné à produire plusieurs phénotypes en fonction de l'environnement dans lequel est placé l'individu (Price et al., 2003; Schlichting and Pigliucci, 1998; West-Eberhard, 1989). C'est-à-dire que toutes modifications de l'expression des gènes ou des protéines ainsi que des métabolites produit par l'individu jusqu'aux macro-phénotypes (morphologie ou couleur) sont fonction de l'environnement sans que le génotype ne change. C'est la définition qui sera utilisée dans ce manuscrit. Si la majorité des auteurs s'accordent sur cette définition, il existe des variations dans la définition selon l'origine supposée de la plasticité phénotypique d'un individu. Est-ce l'organisme qui répond à l'environnement (comme lors d'une relation proie-prédateur) ou, cette réponse est-elle plus passivement induite par l'environnement (comme lors d'une modification de l'alimentation) (Stearns, 1989) ? Quelle que soit l'origine, la plasticité phénotypique n'en reste pas moins une forme d'interaction entre l'environnement et l'organisme (West-Eberhard, 1989). Des questions relatives à la compréhension de cette variation se posent alors : quelle est la source de cette variation ? Est-ce que cette variation est qualitativement/ quantitativement la même selon les environnements et les individus ? Est-ce qu'elle s'applique de la même façon sur tous les caractères phénotypiques ? Quelles lois génétiques gouvernent l'expression et la transmission de la plasticité phénotypique ?

Afin d'introduire le concept de plasticité phénotypique, une première partie proposera la définition de ses mécanismes accompagnée d'exemples marquants. Ensuite, la description des outils fondamentaux permettant l'étude du point de vue statistique mais aussi des outils de génétique quantitative et moléculaires (GWAS, QTLmapping, génétique fonctionnelle...), sous-jacente à cette plasticité phénotypique, sera abordée dans une seconde partie. Puis, les processus dits de plasticité adaptative et mal-adaptative ainsi que les bases génétiques de la plasticité phénotypique feront l'objet d'une troisième partie. Avant de présenter les connaissances actuelles de la plasticité phénotypique chez les champignons, nous nous intéresserons aux implications de la plasticité phénotypique au cours des générations.

## 2. Plasticité phénotypique : mécanismes, outils et exemples

### a) Bases conceptuelles

La plasticité phénotypique est une propriété intrinsèque des organismes qui rassemble tous les aspects du phénotype dont l'expression varie en fonction de différences environnementales (Bradshaw, 2006). En fonction de l'organisme et des conditions environnementales considérées, la plasticité phénotypique s'inclut dans différents caractères qui seront détaillés avec quelques exemples. Ainsi, la croissance, la taille et le nombre des individus, la structure anatomique des organes, sont des caractères morphologiques communément observés (DeWitt and Scheiner, 2005; Sultan, 2000). Aussi, la variation dans la production des métabolites (primaires ou secondaires), un différentiel d'expression des gènes en fonction des environnements sont des marqueurs de la variation phénotypique. Le comportement, la chronologie du cycle de vie et du développement, tout comme le rendement reproductif<sup>8</sup> sont autant de caractères susceptibles de modifications par l'environnement. Enfin, un terme souvent rencontré, en lien avec la plasticité phénotypique est le polyphénisme. Il définit les variations continues et discontinues de la plasticité phénotypique, généralement introduit pour des organismes présentant des morphes distincts entre saisons, entre castes.

Nous pouvons citer les daphnies<sup>9</sup> (*Daphnia cucullata*, *D. pulex*, *D. longicephala*, *D. lumholtzi*), des petits crustacés d'eau douce développant, en présence de prédateurs (poissons, insectes) un casque ou des défenses au niveau du cou ou une crête sur la tête ou une épine sur la queue et la tête (Figure 3) (Weiss, 2019). Aussi, nous distinguons chez la renoncule aquatique (*Ranunculaceae Ranunculus aquatilis*) tout comme la rorippe aquatique (*Brassicaceae Rorippa aquatica*) (Li et al., 2019) une forme de plasticité phénotypique : l'hétérophyllie ou polymorphisme foliaire. Les feuilles immergées sont beaucoup plus découpées que les feuilles émergées<sup>10</sup>. Dans le cas de la renoncule aquatique, c'est la longueur de la photopériode qui a été démontrée comme jouant un rôle majeur dans la détermination de la forme de feuille (Figure 3) (Cook, 1969). Une étude remarquable sur *Tetrahymena thermophila* (protozoaire cilié)

---

<sup>8</sup> L'abondance de production moyenne des gamètes représentant l'effort reproductif d'un individu.

<sup>9</sup> Ces crustacés possèdent deux modes de reproduction ; une reproduction asexuée en condition de vie idéale où les femelles produisent par parthénogénèse de 3 à 50 œufs par semaine ; une reproduction sexuée, en condition de vie défavorable. D'abord par parthénogénèse, donnant d'abord naissance à une génération composée de mâles et de femelles, la reproduction sexuée intervient et produit beaucoup moins d'œufs. Ces œufs produits par paires sont beaucoup plus résistants à la pression, aux frottements, à la dessiccation. Ils peuvent attendre pendant des mois voire des années, le retour de conditions favorables. A nouveau en condition de vie idéale, chaque paire de ces œufs donnera naissance à deux femelles qui redémarreront une reproduction asexuée.

<sup>10</sup> Cette forme est adaptée au débit de l'eau dans les rivières ainsi qu'à la possibilité de capter le CO<sub>2</sub> et les minéraux dans l'eau.

portait sur l'interaction complexe entre les différentes réponses plastiques possibles parmi deux environnements et 15 individus clonaux (Morel-Journal et al., 2020). Ici, les auteurs ont mesuré cinq caractères que sont la densité, la taille et la forme des cellules, la vitesse et la linéarité du déplacement, en lien avec le fitness, la morphologie et le mouvement. En fonction des différentes conditions de température (de 15°C à 39°C) et de concentration en nutriments (de 0.00X à 1.00X dilution du milieu de croissance PPYE<sup>11</sup>), des variations dans les caractères ont été mesurées ainsi que des variations de plasticité phénotypique. Ces auteurs ont notamment démontré que la variation de la réponse plastique d'un génotype se modifiait au regard d'un caractère particulier ou d'un gradient environnemental donné.

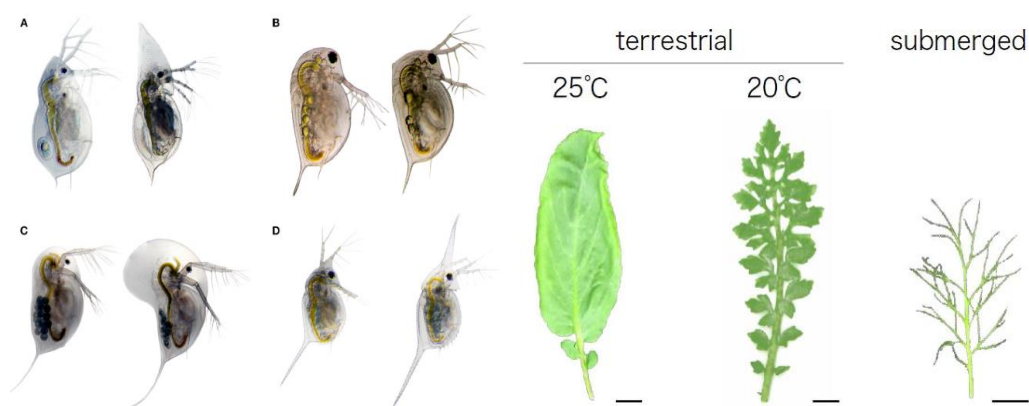


Figure 3 : Plasticité morphologique chez différents organismes. A gauche, les défenses des daphnies. Les exemples répertoriés montrent l'expression du casque chez *D. cucullata* (A) expression de dents au niveau du cou chez *D. pulex* (B) ; expression d'une crête chez *D. longicephala* (C) ; formation d'épines sur la tête et la queue chez *D. lumholtzi* (D). Les morphotypes sans présence de prédateurs sont affichés à gauche et le morphotype avec prédateurs, à droite. Sur la partie droite de la figure, la morphologie de la *Rorippa aquatica* montre une hétérophylle distincte entre les feuilles émergées et immergées (barre = 1cm). Ici l'altération des feuilles est aussi induite par la modification de la température ambiante (G. Li et al., 2019; Weiss, 2019).

## b) Méthodes d'études : GxE et quantification

L'étude de la plasticité phénotypique implique de caractériser la "norme de réaction" d'un génotype, c'est-à-dire l'ensemble des phénotypes que ce génotype produit dans une gamme donnée d'environnements pour un caractère spécifique. Le concept de la norme de réaction (« Reaktionsnorm ») a été décrit par Woltereck dans son article sur les « Enquêtes plus

<sup>11</sup> PPYE 1x: 2% Proteose Peptone and 0.2% Yeast Extract

approfondies sur la variation des types, en particulier en ce qui concerne la nature des différences quantitatives entre les variétés de daphnies » (Peirson and Erick, 2012; Woltereck, 1909). Après de multiples observations de la morphologie de lignées pure de daphnies dans des conditions variables de nutriments, Woltereck réorganisa ses données dans un graphique fonctionnel de la valeur du caractère observé en fonction des environnements testés. L'observation de ces courbes phénotypiques lui a permis de soutenir que le concept de génotype de Wilhelm Johannsen n'était pas un déterminant rigide des caractères d'un organisme mais représentait la gamme complète des phénotypes potentiels latents dans sa norme de réaction (Peirson and Erick, 2012). La norme de réaction était alors définie et son utilisation au cours du XXème siècle s'est considérablement développée et réinterprétée notamment avec l'introduction de la variance de l'interaction génotype-par-environnement en génétique quantitative.

La génétique quantitative a pour objectif d'étudier la variation phénotypique d'un ou plusieurs caractères, continus, au sein d'une population. Dans ce cadre, la partition de la variance devient évidente et comprend alors la variance phénotypique totale ( $V_P$ ), les effets génétiques ( $V_G$ ) et les effets environnementaux ( $V_E$ ). Avec la reconnaissance de la plasticité phénotypique comme une variation essentielle du phénotype total, la partition de variance s'est modifiée pour devenir :  $V_P = V_G + V_E + V_{G \times E} + V_{\text{erreur}}$  où  $V_{G \times E}$  est la variance de l'interaction GxE (Falconer, 1989). Celle-ci spécifie dans quelle mesure l'effet de l'environnement est différent pour un génotype par rapport à un autre génotype : c'est la plasticité phénotypique.  $V_{\text{erreur}}$  est la variance résiduelle (Lande, 2009).

L'analyse des normes de réactions illustre les différentes composantes de la variance phénotypique (Des Marais et al., 2013; DeWitt and Scheiner, 2005). Différents cas de Figures peuvent se présenter. Premièrement, les normes de réaction de plusieurs génotypes sont parallèles entre elles et de pente nulle : la valeur phénotypique est constante entre environnements pour un même génotype mais différente selon les génotypes. Alors il y a de la variation génétique mais pas de plasticité phénotypique ( $V_G$ ) (Figure 4 A). Deuxièmement, les normes de réactions sont parallèles et de pentes non nulles : les génotypes produisent des valeurs phénotypiques différentes en fonction de l'environnement, mais les différences entre génotypes sont constantes. Alors il y a de la plasticité phénotypique observée pour chaque génotype et l'amplitude de la réponse plastique est similaire entre génotypes. En d'autres termes, les génotypes sont influencés de la même façon par l'environnement, conduisant à de la variation phénotypique expliquée par les génotypes ( $V_G$ ), l'environnement ( $V_E$ ) mais sans

interaction GxE. (Figure 4 B). Finalement, lorsque les normes de réaction des différents génotypes se croisent, il y a de plasticité phénotypique et les génotypes répondent de façon différentielle à une modification de l'environnement, traduisant l'interaction GxE. (Figure 4 C).

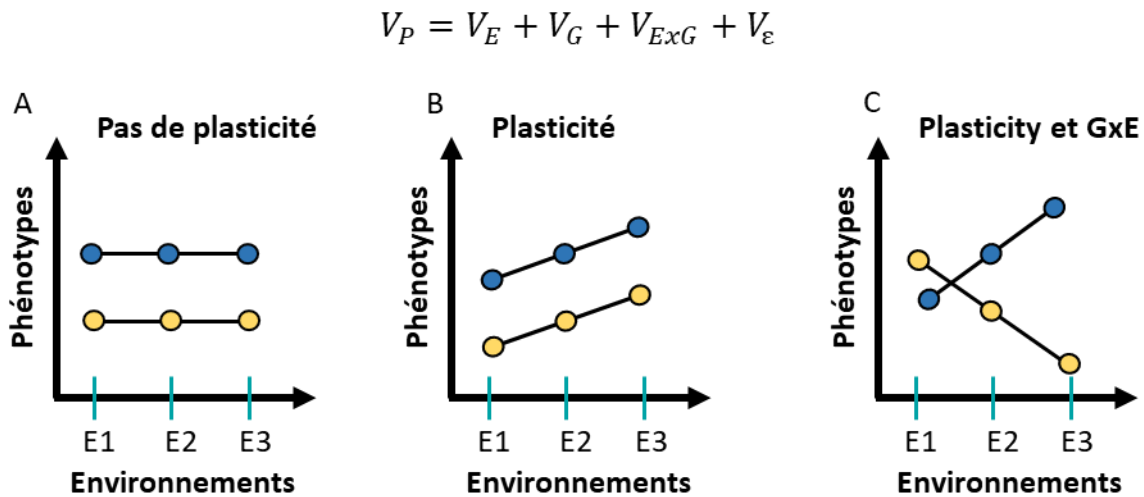


Figure 4 : Equation de la variance phénotypique et normes de réactions. Pour chaque génotype (=couleurs), le phénotype du caractère étudié est mesuré et représenté par les points, eux-mêmes reliés pour former les normes de réactions.

La quantification de la plasticité phénotypique repose aussi sur des méthodes statistiques utilisant la décomposition de variance (Ghalambor et al., 2010; Scheiner, 1993). La première approche utilise l'analyse de variance (ANOVA) pour comparer des groupes génétiquement liés dans des environnements catégoriquement définis. Cette méthode permet de déterminer l'effet des génotypes, de l'environnement et de l'interaction génotype-environnement sur les phénotypes. Une deuxième approche se base sur l'analyse de covariance (ANCOVA) pour mesurer les changements de phénotype en réponse à un environnement continu. Les phénotypes sont mesurés dans des environnements multiples, et la pente de la covariable est testée pour déterminer l'existence de plasticité phénotypique et de variation génétique pour la plasticité. La troisième et dernière approche, basée sur la régression aléatoire, est utilisée pour étudier les normes de réactions individuelles dans une population naturelle (Alves et al., 2017). Cette méthode est particulièrement utile pour les comportements réversibles exprimés de manière répétée au cours de la vie d'un individu (par exemple la reproduction d'un individu en fonction de la température). Elle permet de déterminer l'effet de l'âge, de l'état ou d'autres facteurs sur les comportements et de séparer les effets génétiques et environnementaux.

La caractérisation de la norme de réaction, généralement sur plusieurs environnements, est un sujet central dans l'étude de la plasticité phénotypique (Scheiner, 1993; West-Eberhard, 2003). Ces normes de réaction analysées sur plusieurs environnements sont souvent non linéaires. Des méthodes mathématiques liés à des modèles statistiques furent plus largement développés vers la fin du XXème siècle (Gavrilets and Scheiner, 1993). Chez la drosophile (*Drosophila simulans*, *D. melanogaster*) la plasticité de certains caractères comme le nombre d'ovarioles<sup>12</sup> a été démontré comme étant polynomiale pour des environnement allant de 10°C à 30°C (Delpuech et al., 1995; Gibert et al., 1998, 1996). Dans ces travaux de recherche, la norme de réaction a été modélisée via des équations de régression aléatoire polynomiale, linéaire ou quadratique (Figure 5 A-E) essayant de décrire le plus fidèlement possible les courbes. Ce dernier modèle d'ajustement a été utilisé par Morel-Journel en 2020 afin d'étudier la réponse de *T. thermophila* dans des conditions environnementales particulières (Figure 5 F) (Morel-Journel et al., 2020). Ces équations polynomiales et quadratiques décrivant le phénotype prennent en compte l'environnement et le phénotype à un point particulier de la courbe, calculée par le modèle. Dans les études de la plasticité phénotypique en réponse à deux environnements, les normes de réaction entre deux environnements sont modélisées via une approximation linéaire par simplicité.

Démontrer l'existence de la plasticité phénotypique ne suffit pas, il est important de pouvoir la caractériser au mieux pour un caractère donné, chez un individu dans un contexte précis. De multiples indices ont été développés afin de quantifier la plasticité phénotypique lorsque seuls deux environnements sont considérés. La plupart sont établis sur la différence entre les valeurs phénotypiques moyennes, fréquemment normalisées soit par la moyenne, soit par la valeur maximale. Valladares dans son article de 2006 (Valladares et al., 2006) résuma un certain nombre d'indices permettant la comparaison inter- et intra-espèces. Nous pouvons citer comme exemple l'index de plasticité phénotypique basé sur la moyenne des moindres carrés (MMC) (I), ou basé sur le minimum et le maximum des moyennes (II) ou des médianes (III), ou le coefficient de réponse (IV), entre deux environnement (E1 et E2) :

$$(I) \quad 100 \times \frac{MMC_{E1} - MMC_{E2}}{MMC_{E1}}$$

$$(II) \quad \frac{Max(moyenne) - Min(moyenne)}{Max(moyenne)}$$

$$(III) \quad \frac{Max(médiane) - Min(médiane)}{Max(médiane)}$$

---

<sup>12</sup> Ce sont des filaments caractéristiques des insectes qui comprennent une succession d'ovocytes à différents stades de développement.

$$(IV) \frac{\text{Valeur moyenne } E1}{\text{Valeur moyenne } E2}$$

Les formules (I) et (II) supposent la normalité de l'échantillon et (I) nécessite des facteurs expliquant la structure des données afin de calculer la MMC. (III) est utile quand les données de l'échantillon s'éloignent de la normalité. Enfin, (IV) est un ratio non standardisé donc permettant la comparaison de la plasticité entre différents génotypes pour un caractère donné et s'applique uniquement entre deux environnements.

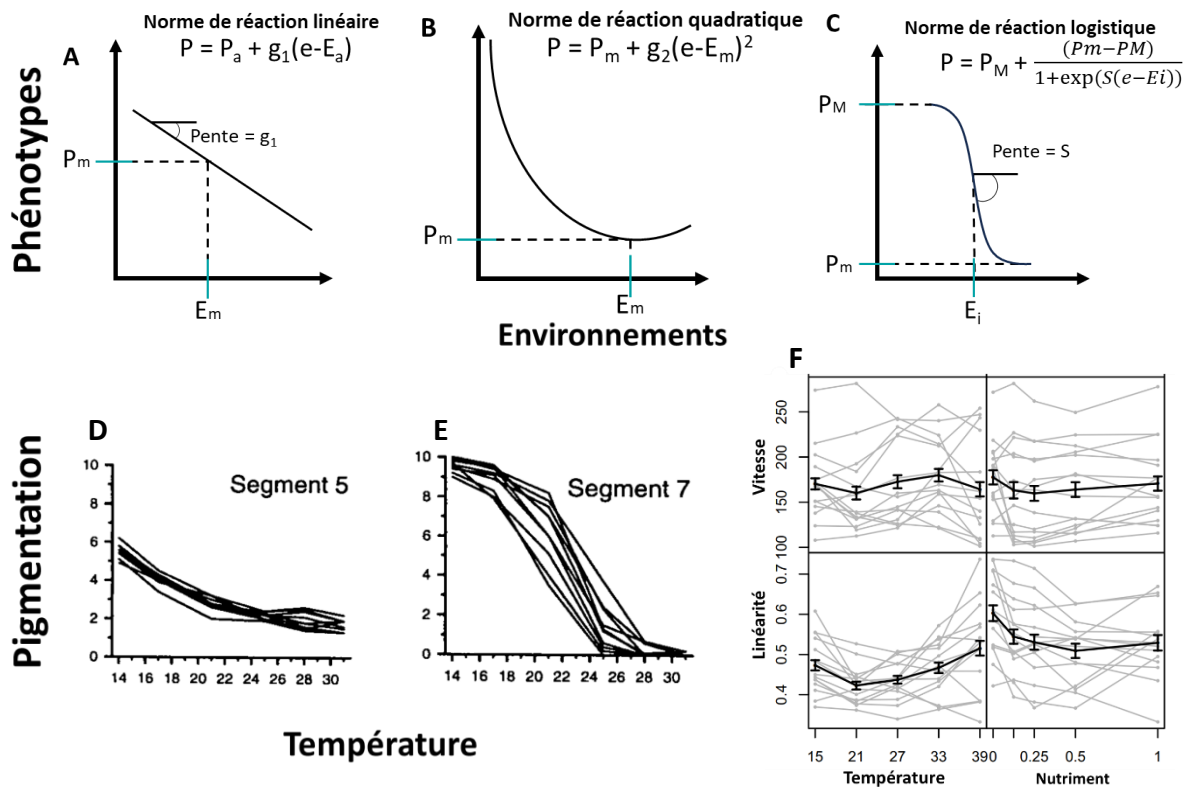


Figure 5 : Normes de réaction théoriques (A) linéaire, (B) quadratique, (C) logistique et observées pour la (D) pigmentation du thorax de *Drosophila simulans* en fonction de la température ainsi que pour (E) la vitesse et la linéarité du déplacement de *Tetrahymena thermophila* en fonction de la température et de la concentration en nutriments. Pour l'équation de (A),  $P_a$  est la valeur moyenne du caractère,  $E_a$  est la valeur moyenne de l'environnement,  $g_1$  est la pente. Pour (B),  $P_m$  est la valeur phénotypique maximum ou minimum (ici minimum par rapport à la courbe),  $E_m$  est l'environnement correspondant et  $g_2$  est la courbure de la norme de réaction. Pour (C),  $E_i$  est l'environnement au point d'inflexion,  $P_m$  et  $P_M$  sont les valeurs phénotypiques aux asymptotes minimales et maximales,  $S$  est la pente au point d'inflexion. Adapté de Gibert et al., 1998 et de Morel-Journel et al., 2020.



L'indice de plasticité par la moyenne a été calculé lors d'une étude s'intéressant à la réponse de certaines graminées alpines aux modifications de la disponibilité en eau, notamment pour étudier comment la plasticité des caractères se modifie selon les espèces considérées. Les auteurs ont démontré un effet significatif du stress hydrique sur la performance (mesurée par la biomasse) des plantes ainsi que des réponses espèce-spécifiques de la plasticité phénotypique étudiée, pour l'ensemble des caractères mesurés. Cependant, les espèces étudiées ici n'ont pas montré une plasticité phénotypique importante au regard de la valeur du coefficient<sup>13</sup> (<0.5 pour l'ensemble des caractères dont le plus élevé est 0.289 sur la moyenne des espèces pour le taux d'évapotranspiration) (Li et al., 2020). Outre cet exemple, de nombreux articles utilisent cet indice afin de quantifier la valeur de la plasticité phénotypique pour chaque génotype (Ren et al., 2020; Wang et al., 2017). D'autres indices tels que la variation relative d'un caractère dans une condition par rapport à une autre condition sont aussi retrouvés (Kadam et al., 2017; Sandhu et al., 2016) ou celui décrit par la formule II afin d'étudier la sensibilité de 3 espèces d'herbes différentes à la sécheresse (Couso and Fernández, 2012).

### 3. Plasticité phénotypique et adaptation de la norme de réaction

#### a) Plasticité adaptative et maladaptative

L'implication de la plasticité phénotypique dans l'adaptation des espèces et sur sa possible valeur sélective dans des environnements différents, voire extrêmes, reste un questionnement central (Chevin and Hoffmann, 2017). La plasticité phénotypique adaptative est définie comme la norme de réaction qui aboutit à la production d'un phénotype allant dans le même sens que la valeur optimale du phénotype favorisé par la sélection dans le nouvel environnement (Ghalambor et al., 2007; Gibert et al., 2019). Cette définition prend en compte l'expression d'un phénotype correspondant à l'état de stabilité naturelle du système dans un environnement donné mais aussi l'augmentation de la fitness globale pour ce génotype (Nicotra et al., 2010). Cependant, la plasticité phénotypique n'est pas toujours adaptative. Elle est appelée non-adaptative ou maladaptative lorsque le phénotype induit par le nouvel environnement possède en moyenne une fitness réduite ou un phénotype moyen très éloigné du phénotype optimum (Ghalambor et al., 2007; Gibert et al., 2019; Morris and Rogers, 2013).

Chez certaines plantes, la plasticité phénotypique adaptative a été notamment décrite chez des individus montrant des différences de formes, de tailles dans la feuille en réponse à des

---

<sup>13</sup> L'indice de plasticité s'étend de 0 – absence de plasticité – à 1 – plasticité maximale.

environnements hétérogènes dans l'intensité en lumière. Chez *Polygonum persicaria* et *P. hydropiper*, en condition de culture impliquant une réduction de la lumière, la surface des feuilles permettant la photosynthèse est bien plus grande relativement à la masse totale de la plante par rapport à ces mêmes génotypes cultivés en plein soleil (Griffith and Sultan, 2005). Ces changements de phénotype contribuent à maintenir une croissance et une reproduction stables dans l'environnement pauvre en lumière donc une fitness stable ou augmentée. La plasticité adaptative a également été décrite sur des modèles animaux. Par exemple, en combinant des observations relatives à la fitness des individus<sup>14</sup> sur une période de 47 ans en lien avec des périodes de températures printanières élevées (Charmantier et al., 2008), les auteurs montrent que la population de mésanges charbonnières a évolué rapidement (forte corrélation entre la date de ponte et la somme des températures, héritabilité de la date de ponte faible  $h \sim 0.16$ ). L'ampleur du changement phénotypique en si peu de temps a été attribuée à la plasticité phénotypique adaptative plutôt qu'à la sélection naturelle. Dans un dernier exemple faisant référence à la thermorégulation des insectes, les chercheurs ont observé des différences de mélanisation de leurs ailes au cours de l'année (ou le polyphénisme de saison). En effet, au cours des saisons froides, l'aile de la piéride de la rave (*Pieris rapae*) dénote d'une mélanisation plus importante que lorsque ce papillon est capturé au cours des saisons chaudes. Les auteurs font l'hypothèse que cette plasticité est adaptative car elle induirait une meilleure thermorégulation des insectes par la lumière du soleil (Stoehr and Goux, 2008).

#### b) Coûts et limites de la plasticité phénotypique

D'autres questions concernant les coûts et les limites de la plasticité phénotypique dans le contexte de l'évolution par sélection naturelle peuvent également être soulevées. Si la plasticité phénotypique semble être avantageuse pour un génotype en lui permettant une tolérance plus importante dans différents environnements (DeWitt et al., 1998; Murren et al., 2015), aucun cas de plasticité parfaite n'a été observé dans la nature. Cela suggère que la plasticité phénotypique est soumise à certaines limites. Les coûts représentent les compromis entre la fitness et la production optimale du caractère (Auld et al., 2010; Valladares, 2007), pouvant ainsi expliquer la différence de fitness entre un organisme plastique et un organisme robuste pour une même valeur de caractère (Murren et al., 2015). Et les limites de la plasticité phénotypiques peuvent être envisagées lorsque la valeur du nouveau caractère n'est pas aussi proche que celle de

---

<sup>14</sup> L'étude porte sur le moment de reproduction des mésanges et la période d'alimentation des jeunes.

l'optimum obtenu dans par un développement fixe. (Auld et al., 2010). Ainsi, la littérature définit une liste de limites et coûts imputables à la plasticité phénotypique :

### **Limites de la plasticité phénotypique :**

- Gamme développementale : la gamme de valeurs possibles pour les génotypes plastiques peut être plus restreinte que pour des génotypes spécialisés dans l'environnement.
- Fiabilité de l'information : les signaux environnementaux changent trop rapidement empêchant d'évaluer précisément les conditions environnementales.
- Délais de réponse : délais de réponse entre la réception d'un signal environnemental et la production d'un phénotype optimal.
- Limites épiphénotypique : structures secondaires ajoutées lorsque l'organisme détecte tardivement dans l'ontogenèse, un changement environnemental. Structures pouvant être moins performantes que si elles avaient été produites comme les éléments principaux du développement.
- Limites liées à l'historique des réponses : intervient lorsque le potentiel d'une réponse à l'environnement actuel dépend des réponses antérieures.
- Limites écologiques : survient lorsqu'un facteur environnemental restreint l'éventail des réponses possibles à d'autres facteurs environnementaux.

### **Coûts de la plasticité phénotypique**

- Coûts de maintenance : ce sont des coûts énergétiques liés aux systèmes de régulation ou de capteur utilisés pour détecter l'environnement.
- Coûts de production : ce sont des coûts supplémentaires de production d'un phénotype plastique par rapport au coût que payerait un génotype spécialisé produisant le même phénotype.
- Acquisition d'informations : dépenses énergétiques liées à l'obtention des informations environnementales non requises pour les individus spécialisés.
- Instabilité développementale : implique une susceptibilité plus grande dans la précision de production du phénotype chez les génotypes plastiques.
- Coûts liés aux bases génétiques : dus aux effets délétères des loci de plasticité phénotypique par déséquilibre de liaison, pléiotropie ou épistasie avec d'autres loci.

Un coût de plasticité peut se manifester comme une réduction dans le fitness d'un génotype plastique comparé à un génotype non plastique exprimant la même valeur de caractère dans un

environnement donné. De manière empirique, il est possible de déterminer le coût probable de la plasticité phénotypique en étudiant l'interaction GxE dans deux environnements puis en effectuant une régression de la fitness des génotypes dans l'environnement 1 contre la plasticité phénotypique de l'environnement 2. Un coefficient de régression négatif est le signe d'un coût de la plasticité phénotypique entre les génotypes (Auld et al., 2010; De Lisle and Rowe, 2023; Murren et al., 2015). Un coût de la plasticité phénotypique est rarement observé, comme décrit dans une étude évaluant les conséquences de la fitness de la plasticité phénotypique dans la tolérance aux pesticides de plusieurs populations de grenouille des bois (DiGiacopo and Hua, 2020). Cependant, les coûts (et les limites ?) de la plasticité phénotypique peuvent être diminués dans un environnement avec des ressources abondantes. C'est l'hypothèse formulée par certains auteurs notamment au regard d'une tolérance plus importante au carbaryl<sup>15</sup> des daphnies élevées dans un environnement riche en nutriment par rapport à celles élevées dans un environnement pauvre en ressources (Wuerthner et al., 2019).

### c) Plasticité transgénérationnelle

Un autre point important dans la compréhension de la plasticité phénotypique serait de considérer comment les conditions environnementales rencontrées au sein d'une génération, et sa plasticité phénotypique, peuvent influencer les futures générations. La plasticité transgénérationnelle peut se définir comme les changements d'un caractère spécifique, dans la descendance, induit par les conditions environnementales rencontrées par les ancêtres (Bell and Hellmann, 2019). C'est un mode de transmission non-génétique<sup>16</sup> et épigénétique par lequel l'expérience d'un environnement par un parent influencera les normes de réactions des descendants (Donelson et al., 2018). L'impact de l'acclimatation suite à une élévation de la température dans l'environnement des grands-parents et des parents sur la descendance des épinoches (*Gasterosteus aculeatus*) a démontré l'importance des conditions environnementales sur le phénotype des descendants. Aussi la plasticité transgénérationnelle des parents induirait une acclimatation plus rapide aux conditions environnementales (Shama and Wegner, 2014). La température, la salinité du sol, la sécheresse, la luminosité de l'habitat sont autant d'environnements où la plasticité transgénérationnelle chez diverses espèces de plantes a été démontrée, faisant l'objet d'une revue (Herman and Sultan, 2011).

---

<sup>15</sup> Produit phytosanitaire, pesticide

<sup>16</sup> Ou hérédité non mendélienne

#### d) Bases génétiques de la plasticité phénotypique

La caractérisation de l'interaction génotype-environnement est sans doute le terme le plus important dans la quantification de la diversité de la réponse plastique. GxE représente la quantification directe de la variation génétique pour la plasticité d'un caractère. Cinq modèles décrivant les bases génétiques de la plasticité phénotypique sont nommés dans la littérature (El-Soda et al., 2014; Scheiner, 1993) :

Modèle de la sur-dominance : la plasticité est considérée comme une fonction de l'homozygotie. La quantité de changement d'un phénotype à travers les différents environnements est une fonction décroissante du nombre de loci hétérozygotes où les loci hétérozygotes apportent une fitness plus élevée.

Modèle pléiotrope (ou de la sensibilité allélique) : la plasticité est considérée comme une fonction de l'expression différentielle d'un même gène dans différents environnements. L'expression d'un allèle dans un environnement est potentiellement indépendante de son expression dans un environnement différent (Kingma et al., 2020).

Modèle épistatique (ou de la régulation génique) : la plasticité est produite par des gènes qui déterminent l'ampleur de la réponse aux effets environnementaux, interagissant avec les gènes qui déterminent l'expression moyenne du caractère. Ici, il est fait l'hypothèse d'indépendance entre le caractère moyen et le caractère plastique. Une étude des bases de génétique de la résistance thermique (chaleur et froid) chez *D. melanogaster* et *D. simulans* suggère d'une part une divergence dans les effets génétiques liés aux paramètres de la norme de réaction entre les deux espèces et entre les sexes et d'autre part, des effets génétiques non-additifs (épistasie) à l'origine des caractères observés et de la plasticité phénotypique (Van Heerwaarden and Sgrò, 2017). Ce modèle est aussi décrit chez les plantes (Kusmec et al., 2017; Tan et al., 2020).

Modèle de liaison génétique (ou de déséquilibre de liaison) : les allèles qui favorisent la plasticité phénotypique peuvent être liés à des allèles conférant une fitness faible ou élevée (Gulisija et al., 2016).

Modèle épigénétique : les modifications de la chromatine et des méthylations de l'ADN peuvent dépendre de l'environnement et conduire à des modifications d'expression des gènes sans changement de la séquence d'ADN.

Concernant l'architecture génétique des caractères de la plasticité phénotypique, des approches de génétique classique ont pu démontrer l'implication de régions génomiques et l'identification

de possible gènes candidats. Chez les plantes, des études d'association pangénomique (GWAS) ont identifié des loci impliqués dans la plasticité de certains caractères. Par exemple, le déterminisme génétique de la plasticité du rendement en huile de tournesol (*Helianthus sp.*) en réponse à de multiples stress a été étudié (Mangin et al., 2017). Les auteurs suggèrent un déterminisme génétique spécifique de la plasticité phénotypique de la réponse au froid alors que ce serait un contrôle génétique commun qui contrôlerait la réponse plastique aux stress hydrique et azoté. Neufs SNPs (QTL) associés à la plasticité du rendement face à un stress froid étaient déjà connus comme étant impliqués dans la réponse à ce même stress. Parmi eux, un SNP présent dans un gène codant une protéine de transfert lipidique dont l'expression est induite par le froid a été identifié. Cette protéine posséderait une action dans la prévention des dommages induits au niveau des chloroplastes et dans la mobilisation des lipides pendant la germination et la croissance. Ainsi, la plasticité serait contrôlée par les mêmes gènes que ceux contrôlant la valeur moyenne du caractère, suggérant un modèle d'architecture pléiotropique. Dans un autre exemple, une étude de GWAS a mis en évidence 76 loci associés à la plasticité de la morphologie de la racine chez le riz (*Oryza sativa*) en condition de stress hydrique. Parmi ces loci, les auteurs ont prédit 233 gènes candidats dont certains d'entre eux seraient impliqués dans la croissance et le développement de la racine, suggérant un modèle d'architecture pléiotropique (Kadam et al., 2017). Enfin, chez le maïs, une étude de GWAS sur 23 caractères et leur mesure de plasticité a révélé que les gènes candidats associés aux valeurs moyennes des phénotypes sont distincts des gènes candidats associés aux valeurs de plasticité phénotypique. Cela suggère une architecture de type épistatique (Kusmec et al., 2017).

Aussi, certains auteurs ont proposé que des perturbations dans les gènes impliqués de manière centrale dans les réseaux génétiques puissent influencer la plasticité phénotypique des organismes. Il s'agit des « hub-genes » ou gènes centraux possédant un rôle prédominant dans la plasticité phénotypique connue chez la levure et suggérée dans le contrôle de la variabilité chez les plantes (Laitinen and Nikoloski, 2019; Levy and Siegal, 2008).

Enfin, d'autres mécanismes, liés au contrôle non-génétique de la plasticité phénotypique ont été abordés dans la littérature. Il s'agit des mécanismes épigénétiques : méthylation de l'ADN, RNA Editing, modifications post-traductionnelles. Chez *Arabidopsis thaliana*, l'utilisation d'un inhibiteur de méthylase de l'ADN (5-azacytidine) induit une diminution de la plasticité globale par rapport à la nutrition et augmente la plasticité liée au temps de floraison. Les auteurs ont montré l'existence de différences de réponse plastique entre les 22 génotypes en présence

de l'inhibiteur ce qui suggère que le génotype et l'épigénotype agissent de manière complexe afin de déterminer la plasticité phénotypique (Bossdorf et al., 2010).

Ces différents exemples montrent aussi le caractère ubiquitaire de la plasticité phénotypique : les organismes biologiques (tous ?) confrontés à des variations environnementales peuvent modifier leur phénotype pour maintenir un équilibre stable.

#### 4. Plasticité phénotypique et champignons

La plasticité phénotypique chez les champignons a été un sujet de recherche relativement sous-exploré au cours des dernières décennies, bien qu'il ait fait l'objet d'études particulières portant sur des aspects tels que la plasticité de la morphologie, la physiologie et l'interaction GxE. Cette section a pour but de fournir une description détaillée de la plasticité phénotypique chez les champignons.

##### a) Morphologie et physiologie

Les champignons, en particulier, sont connus pour leur capacité à changer de forme, de physiologie en réponse aux stimuli environnementaux (Wang and Lin, 2012). L'étude de la plasticité phénotypique chez les champignons nous renseigne sur leur aptitude à la survie, à la dispersion, à l'adaptation à l'environnement et leur capacité à réussir ces processus fondamentaux. Les modifications de morphologie et physiologie sont bien visibles chez les champignons, indiquant la présence de plasticité phénotypique. Un champignon bien connu pour sa diversité phénotypique est *Aureobasidium pullulans*. En 2009, un article présente différents exemples de diversité morphologique sous diverses conditions : lumière ou obscurité, différentes sources de carbone et d'azote ainsi que l'influence de l'épigénétique dans ce changement de morphologie. Parfois considéré comme une levure, parfois comme un champignon filamenteux, les conditions environnementales influent sur sa taille et sa vitesse de croissance, la formation de secteurs mélanisés, la formation de structure d'hyphes branchés ou non (Slepecky and Starmer, 2009). Parmi les champignons pathogènes humains, nous retrouvons *C. albicans* (Noble et al., 2017) ou *Histoplasma capsulatum* (Beyhan et al., 2013) capables eux aussi de changer de forme en passant de la forme levure à la forme hyphes. Précisément, la transition hyphale chez *C. albicans* requiert une augmentation de la température (37°C) avec une action de la protéine chaperonne HSP90, ainsi que le relargage d'une molécule

de quorum sensing<sup>17</sup>, le farnesol. Des conditions hypoxiques induisent une répression du facteur de transcription de la croissance filamenteuse *Efg1*, provoquant un changement de morphologie de type hyphe vers le type levure. A l'inverse, d'autres facteurs environnementaux retrouvés dans la niche-hôte de ce champignon tels que le pH et les acides aminés induisent la transition morphologique levure-hyphes (Chow et al., 2021). L'étude du métabolome de *C. albicans* dans différentes conditions de température et de composition du milieu montre un recâblage métabolique permettant de survivre dans ces environnements. Cependant, les auteurs ne montrent aucune altération significative du métabolisme lors de la transition levure-hyphes mais suggèrent que les subtiles modifications de concentrations des métabolites sont suffisantes (Gallo et al., 2022).

La littérature des champignons pathogènes humains et animaux dénotent un autre phénomène associé à la plasticité phénotypique : la persistance cellulaire. La persistance cellulaire est définie par la capacité de certaines souches à survivre après un traitement antifongique équivalent à la concentration minimale inhibitrice (De Brucker et al., 2016; Delarze and Sanglard, 2015; Keren et al., 2004; Wuyts et al., 2018). Cette forme de plasticité phénotypique est aussi appelée hétérogénéité phénotypique (Hewitt et al., 2016). Des levures de *C. albicans*, regroupées dans un biofilm en présence d'antifongiques, représentaient 1 à 3% de la population totale *in vitro* (LaFleur et al., 2006) et de 0.9 à 3.7% (LaFleur et al., 2010) chez des patients. Ces mêmes auteurs ont démontré que l'adhésion mais pas la formation de biofilm semblait nécessaire à la formation des cellules persistantes tout comme le fait que ces cellules persistantes sont des variations du phénotype (augmentation de la tolérance aux antifongiques sans résistance acquise). Des études chez *Aspergillus fumigatus* ont montré qu'une diminution de la sensibilité à différents antifongiques concomitante à la production d'une matrice extracellulaire semblable à des biofilms, est le signe de la persistance (d'Enfert, 2009).

#### b) Caractérisation de la variance phénotypique expliquée

Bien que ces études présentées s'attachent à caractériser la morphologie et la physiologie sous-jacentes à la plasticité phénotypique, il n'y est pas fait mention de la caractérisation de la plasticité phénotypique par la norme de réaction ou par des mesures quantitatives. La caractérisation de la plasticité phénotypique par partition de la variance phénotypique ( $V_p$ ) en incluant la variance de l'interaction Génotype par Environnement ( $V_{G \times E}$ ) est le moyen le plus

---

<sup>17</sup> Communication cellule à cellule permettant notamment de réguler la formation de biofilm.



utilisé. Chez *Mycosphaerella graminicola*, la littérature rapporte un effet significatif de la contribution de la plasticité phénotypique du caractère « vitesse de croissance » à différentes températures (15 et 22°C). La variance  $V_{G \times E}$  expliquait environ 25% de la variance totale phénotypique et plus de la moitié de cette variance était attribuée aux effets génétiques ( $V_G$ ). En outre, les auteurs ont indiqué que les différences génétiques liées à la plasticité phénotypique observée pourraient être les déterminants primaires de l'adaptation aux températures de ce pathogène (Zhan and McDonald, 2011). Chez *B. cinerea*, une étude sur la contribution relative de la plasticité phénotypique et de la diversité génétique a été réalisée sur 15 isolats génétiquement distincts (Corwin et al., 2016). Plusieurs caractères tels que la vitesse de croissance, la densité de sporulation ont été mesurés et la plasticité phénotypique a été quantifiée dans de multiples conditions *in vitro* et *in planta*. Pour la majorité des caractères dans les 12 environnements, la proportion de variance expliquée ( $\eta^2$ ) par  $V_{G \times E}$  est significative mais variable selon les caractères considérés. Par exemple, la proportion de variance expliquée par le facteur génétique ( $V_G$ ) pour le caractère vitesse de croissance était de  $\eta^2=0.81$  en moyenne alors que la variance expliquée par la plasticité phénotypique ( $V_{G \times E}$ ) était inférieure à  $\eta^2=0.20$ . C'est pour la densité de sporulation que la variance expliquée par l'interaction GxE est la plus importante ( $\eta^2=0.84$ ). L'ensemble des programmes de développement chez *B. cinerea* semblerait être contrôlé par une combinaison entre l'environnement, la génétique et la plasticité phénotypique. Ces résultats *in vitro* contrastent avec les résultats *in planta* où la contribution de la génétique et de la plasticité phénotypique sont équivalentes.

Chez *Fusarium culmorum*, la variabilité phénotypique a été observée dans une population naturelle de 100 isolats en s'intéressant à l'agressivité et à la production de mycotoxines *in planta* (Castiblanco et al., 2017). Dans cette étude, l'analyse de variance de l'interaction entre les isolats et l'environnement est significative, correspondant à moins d'1/3 de la variance phénotypique totale<sup>18</sup>. Dans une autre étude, ces mêmes auteurs se sont intéressés plus particulièrement à l'étude de la plasticité phénotypique et à la probable réponse adaptative de 38 isolats de *F. culmorum*. Des mesures de phénotype similaires ont été suivies selon l'hôte (blé tendre, blé dur, triticale et seigle), la région géographique et l'année (Castiblanco et al., 2020). L'analyse de la plasticité phénotypique s'est basée sur l'utilisation d'un modèle mixte linéaire (AMMI : Additive main-effects and multiplicative interaction) prenant en compte les effets principaux (génétique et environnement) et les effets multiplicatifs de l'interaction GxE. Ce modèle combine une analyse univariée (ANOVA) pour les effets principaux et une approche

---

<sup>18</sup>  $\sigma_{I \times E} / (\sigma_I + \sigma_e)$

multivariée (ACP : Analyse en Composante Principale) pour l'interaction GxE (Patterson, 1997). Le modèle AMMI est généralement utilisé pour analyser des données présentant un suivi temporel de certaines variables dans de multiples environnements. Les auteurs ont démontré que la plasticité phénotypique liée à l'agressivité et à l'accumulation de DON dans les grains représentait 73% et 49% de la variance phénotypique totale ainsi qu'une grande contribution de l'interaction entre l'hôte, l'année et la région géographique. Cela souligne l'importance des changements saisonniers, responsables de l'évolution de ce pathogène utilisant la plasticité phénotypique comme processus d'adaptation.

La plasticité phénotypique est également étudiée au niveau interspécifique. Alster et al (Alster et al., 2021) ont étudié 12 espèces fongiques différentes isolées à partir d'échantillons de sols collectés au sud de la Californie (Etats-Unis). L'analyse repose sur une analyse de variance (ANOVA) basée sur 3 modèles de régression non linéaire (1<sup>er</sup> ordre, d'interaction et quadratique) permettant d'expliquer au mieux la relation entre les variables dépendantes (la température et l'humidité) et les variables indépendantes (les caractères : activités enzymatiques et biomasse). Les résultats des différents modèles ont montré de la variation dans les caractères en fonction des diverses conditions environnementales testées. L'interaction entre isolats et température était significative pour l'ensemble des caractères alors que l'interaction avec l'humidité n'est significative que pour une seule des activités enzymatiques mesurées. Il y a de la variation de plasticité phénotypique entre les environnements étudiés. Pour trois souches de *Coprinellus aff xanthothis*, les auteurs ont noté de la variation génétique de la plasticité phénotypique. Une hypothèse est que cette différence semble être attribuée à l'adaptation au microclimat par les souches rencontrées avant l'isolement. Enfin, cette étude suggère qu'avec l'élévation des températures, certains champignons pourraient être moins adaptés au climat favorisant la plasticité phénotypique de certains (au regard de la forte variation des activités enzymatiques mesurées à des températures plus élevées).

### c) Plasticité phénotypique des populations de champignons

Au niveau d'une population, la plasticité phénotypique de *Seiridium cardinale* (Ascomycota) sur des caractères de croissance, de production d'acervuli<sup>19</sup>, de taille et de production de conidies face à différentes températures a été étudiée (Garbelotto et al., 2015). En utilisant

---

<sup>19</sup> Agrégation de conidiophores portant des conidies constituant un mucus plus ou moins coloré.

l'indice de plasticité<sup>20</sup> et le coefficient de variation<sup>21</sup> sur des populations américaines (popAm) et méditerranéennes (popMed1 et popMed2), les auteurs ont décrit une plasticité phénotypique pour les caractères étudiés liée à l'origine géographique des souches. Sachant que les populations méditerranéennes dérivent des populations américaines, les auteurs suggèrent que la plasticité a joué un rôle important dans les premiers stades d'invasion des arbres (plasticité popMed1 > popAm) puis s'en est suivie une diminution de la plasticité après avoir trouvé une niche écologique adaptée (popMed2 > popMed1). Nous observons ici une plasticité phénotypique adaptative.

#### d) Les prémices de l'architecture génétique de la plasticité phénotypique

Enfin, quelques études se sont attachées à déterminer quelles pouvaient être les bases moléculaires de la plasticité phénotypique. D'abord, à propos de la persistance cellulaire chez *C. albicans*, l'étude du génome de certaines cellules dit « high-persisters » déterminerait les bases moléculaires de ce type de plasticité phénotypique. Certaines levures de *C. albicans* en présence d'antifongique ont été criblées comme étant « high-persisters (HIP) » (LaFleur et al., 2010). Ces cellules ont des concentrations minimales inhibitrices (CMI) similaires à celles du type sauvage, mais génèrent une proportion plus élevée de cellules persistantes. Une technique de séquençage de code-barres<sup>22</sup> (multiplex bar-seq) a mis en évidence des gènes impliqués dans la persistance à l'amphotéricine-B de *Saccharomyces cerevisiae* affectant la régulation de la croissance (voie TORC1) et le métabolisme des lipides. La validation de ces résultats passe notamment par l'observation des propriétés phénotypiques similaires des mutants par définition des HIP (Bojsen et al., 2016).

Toujours chez *S. cerevisiae*, la plasticité phénotypique a un impact important sur la fermentation du moût de raisin. Une étude, basée sur une approche de génétique quantitative (par QTL mapping) a permis de mettre en évidence une architecture génétique particulière de l'interaction GxE (Peltier et al., 2018). Dans cette étude, la variance  $V_{G \times E}$  représente une part importante de la variance totale expliquée (de 3.2% à 26.1%, médiane = 13.2%) et d'autre part cette plasticité serait la règle plutôt que l'exception comme moyen d'adaptation à l'environnement, pour la production en acide acétique notamment. Sur les 21 QTL liés à

---

<sup>20</sup>  $\frac{\max(\text{moyenne}) - \min(\text{moyenne})}{\max(\text{moyenne})}$ , section II-b et (Valladares et al., 2006)

<sup>21</sup>  $\frac{\text{écart-type}}{\text{moyenne}}$  et (Valladares et al., 2006)

<sup>22</sup> Chaque souche de contient un gène muté par délétion identifiée par des code-barres (uptag etowntag) unique. Après culture des souches poolés, les code-barres peuvent être amplifié par PCR puis séquencés.

l'interaction GxE, 1 QTL ayant une possible action pléiotrope sur la réponse plastique pour 3 caractères (le rendement en SO<sub>2</sub>, la phase de latence observée avant la production de CO<sub>2</sub> et la moyenne de consommation des sucres) a été identifié. Le gène mis en cause dans la plasticité phénotypique observée est le gène *SSUI* codant une pompe à efflux de sulfites. Le modèle de pléiotropie est un levier important, impliqué dans l'architecture génétique de la plasticité phénotypique (section III-3c).

Chez *Zymoseptoria tritici*, un champignon filamenteux phytopathogène du blé, l'analyse du transcriptome en conditions de stress abiotique a permis de mieux comprendre son potentiel adaptatif (Jallet et al., 2020). Les auteurs ont utilisé une approche d'évolution expérimentale et de transcriptomique afin de mettre en évidence la plasticité de l'expression des gènes entre une condition de température stable par rapport à une température fluctuante sur l'évolution. A partir d'une analyse statistique, issue d'un modèle linéaire prenant en compte le niveau d'expression des gènes entre toutes les conditions, les auteurs ont démontré qu'après évolution dirigée, leurs souches avaient des fonds génétiques différents conduisant à des expressions contrastées des gènes dans les différentes conditions. Cela suggère une base génétique complexe dans l'adaptation. De plus, en s'assurant qu'il n'y avait pas de mutations significatives entre les clones d'une même évolution à une température donnée, les auteurs ont noté que la différence d'expression des gènes était due à la plasticité phénotypique.

Enfin, dans une autre mesure, nous pouvons considérer que le déterminisme moléculaire de la plasticité phénotypique n'est pas entièrement génétique. En effet, certaines preuves de l'implication de l'épigénétique dans la plasticité phénotypique semblent retrouver chez *Neurospora crassa* et *C. albicans*. A partir de mutants invalidés pour des gènes impliqués dans la méthylation de l'ADN, dans différentes méthylations et acétylations d'histones ainsi que dans l'interférence à ARN<sup>23</sup>, Kronholm et al. ont montré une implication variable de l'épigénétique dans la plasticité phénotypique. Sur 25 gènes étudiés dans 4 environnements (Température et pH fluctuants, concentrations différentes en NaCl et en saccharose), seules 20 combinaisons sur 100 ont montré un effet de l'épigénétique sur la norme de réaction dont 9 sont qualifiées de changement mineur dans la norme de réaction. Par exemple, à propos de la voie de l'ARN interférent, sur les cinq gènes ciblant l'initiation et la maturation des ARN interférents (ARNi), un seul semble avoir un impact sur la plasticité phénotypique. Il s'agit de *qde-2*, gène codant une protéine Argonaute essentielle dans la maturation des ARNi où une modification de la

---

<sup>23</sup> Un ARN interférent est un acide ribonucléique simple ou double brin dont l'interférence avec un ARN messenger spécifique conduit à sa dégradation et à la diminution de sa traduction en protéine.

norme de réaction est observée en présence d'un stress lié à la température, la concentration en saccharose et à la différence de pH. Chez *C. albicans*, sa capacité de survie dans différentes conditions, à l'intérieur d'un hôte notamment, est influencée par l'expression variable de certains gènes, en lien avec les modificateurs de la chromatine (acétylases, méthylases, autres modifications post-traductionnelles) (Rai et al., 2018).

C'est dans ce contexte de plasticité phénotypique et de potentiel adaptatif que s'ancre notre étude, centrée sur le champignon phytopathogène *Fusarium graminearum*. Dans la prochaine partie, nous décrirons les différents aspects historiques, physiologiques, phytopathologiques et toxigéniques ainsi que des méthodes de lutte pour finir sur quelques aspects de génomique de ce champignon.

## *Fusarium graminearum* phytopathogène de renommée internationale

### 1. Histoire de *Fusarium*

*Fusarium* est un genre de champignon ascomycète qui appartient à la classe des *Sordariomycetes*, l'ordre des *Hypocreales* et la famille des *Nectriaceae*. Le genre *Fusarium* a été décrit pour la première fois par le naturaliste et médecin allemand Johann Heinrich Friedrich Link en 1809 (Link, 1809). Les espèces de *Fusarium* ont traditionnellement été définies par leurs caractères morphologiques. Ces caractères incluaient la présence ou l'absence de chlamydospores ainsi que la présence ou l'absence et la forme des macroconidies (Leslie and Summerell, 2006). Les macroconidies sont des spores asexuées fusiformes cloisonnées alors que les microconidies sont de petite taille et généralement non cloisonnées, toutes deux typiques du genre *Fusarium*. Quant aux chlamydospores, elles représentent des spores de résistance entourées d'une paroi épaisse formées à partir d'une cellule d'un hyphes ou d'une macroconidie (Boisson, 1991). Toutes les espèces de *Fusarium* ne sont pas connues pour produire tous les types de spores discutés précédemment et moins de 20% des *Fusaria* ont un cycle sexué connu (Ma et al., 2013). Aujourd'hui le genre *Fusarium* regroupe plus de 80 espèces dont la plupart sont caractérisées comme étant pathogène pour les plantes, l'homme ou les animaux (Moretti, 2009). La plupart des espèces de *Fusarium* sont décrites comme produisant des mycotoxines, métabolites toxiques secondaires pouvant induire directement ou indirectement des maladies chez les plantes comme chez les animaux et souvent associées à des enjeux économiques

majeurs. Dans la présente étude, nous nous intéresserons uniquement à l'espèce pathogène et toxigène *F. graminearum*, la plus répandue sur céréales (Figure 5).

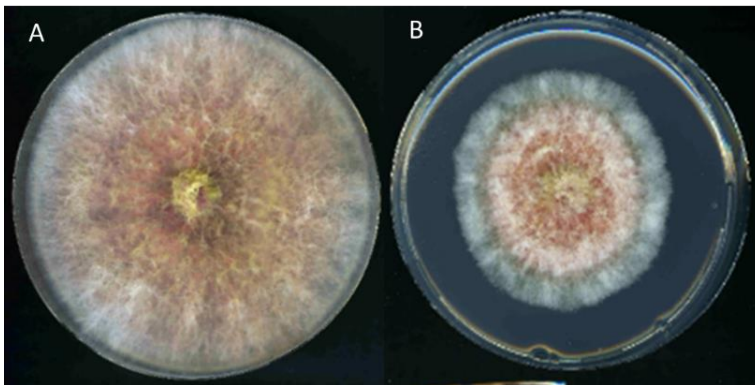


Figure 6 : *F. graminearum* (INRA156) vue macroscopique de dessus après 4 jours de culture à 25°C (A) et à 30°C (B) sur milieu PDA (Crédit photo INRAE – MycSA).

## 2. Cycle de vie et vie de l'infection de *Fusarium graminearum*

*F. graminearum* possède une large gamme d'hôtes et aucune spécialisation vers certains hôtes n'a été observée. Le cycle de vie et le cycle infectieux de ce champignon est décrit sur le blé.

### a) Cycle de vie *Fusarium graminearum*

*F. graminearum* est agent pathogène décrit comme étant hémibiotrophe. Cela signifie qu'il peut passer d'une phase biotrophe (dépendant des tissus vivant de son hôte pour sa croissance) à une phase nécrotrophe (envahissement des tissus en les dégradant) au cours du processus d'infection (Figure 6). L'inoculum primaire, initiant son cycle de vie, vient du sol et des résidus de cultures

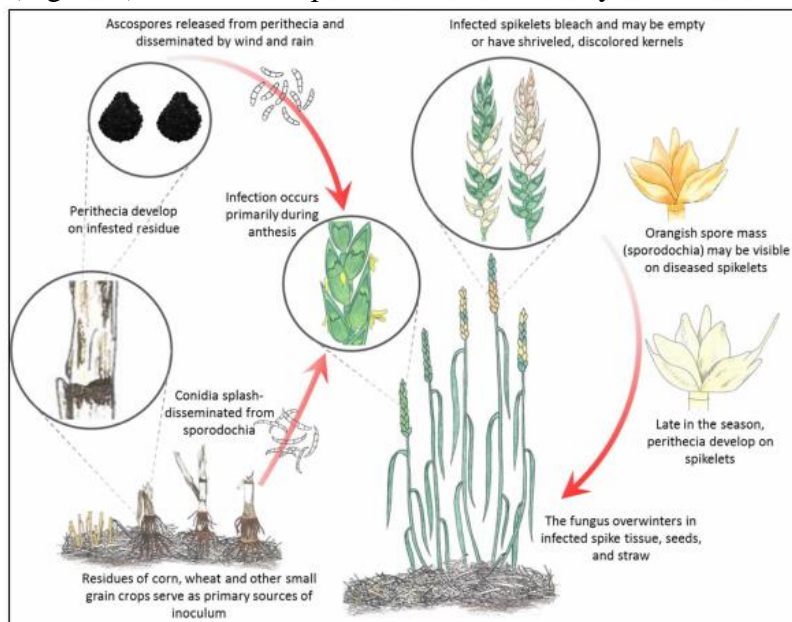


Figure 7 : Cycle de vie de *F. graminearum* (Karasi et al., 2016)

infectés par le champignon, survivant à la saison hivernale sous forme de chlamydospores ou dans les périthèces. Au printemps, quand des conditions particulières d'humidité et de chaleur sont réunies, les spores (sexuées ou asexuées) germent généralement lors de l'anthèse<sup>24</sup> du blé (Broydé and Doré, 2013). Le mycélium haploïde entre dans la plante à

<sup>24</sup> L'anthèse est la période pendant laquelle une fleur est complètement ouverte et fonctionnelle.

travers des ouvertures naturelles telles que la paléole (ou glumelle supérieure, Figure 7) ou le lemme (glumelle inférieure) puis commence sa croissance intercellulaire, asymptotique pour la plante en se propageant dans le xylème (Trail, 2009), conduisant finalement à la production de spores. Cet inoculum est dispersé principalement par le vent mais aussi par « splashing » (éclaboussure par des gouttelettes de pluie) et par le contact entre feuilles. Ensuite, le pathogène effectue une transition vers un mode de vie nécrotrophe. Au fur et à mesure de la progression du champignon dans la plante, des enzymes (cutinases, lipases, protéases), impliqués dans la dégradation de la paroi, sont produits facilitant la pénétration et la colonisation des tissus (Walter et al., 2010).

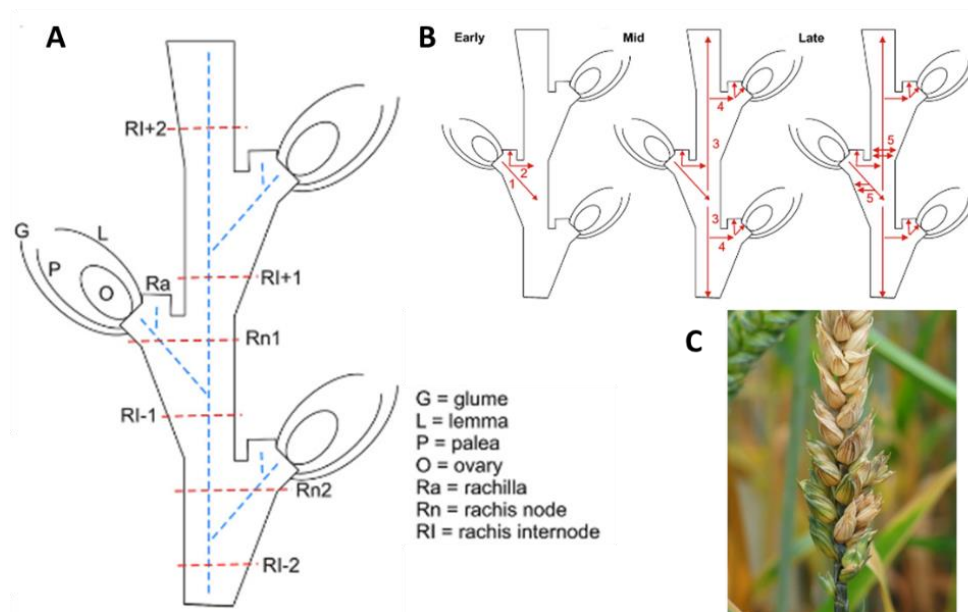


Figure 8 : Schéma illustrant l'anatomie de l'épi de blé et des connexions vasculaires en bleues (A) entre les épillets voisins. (B) Illustration schématique du cheminement de l'infection fongique au cours du temps au début, au milieu et à la fin. (C) Symptôme de la fusariose de l'épi où la contamination de blé par *F. graminearum* présente une décoloration et une atrophie des épis infectés (crédit photo MycSA).

Une étude en 2009 a démontré que ce pathogène exploite une voie de signalisation hormonale de la plante (la voie de l'éthylène) et la présence de mycotoxines (déoxynivalenol : DON) afin d'augmenter la sensibilité de la plante à l'infection, en augmentant la mort cellulaire (Chen X. et al. 2009). Le DON est considéré comme un facteur de virulence sur le blé qui faciliterait la progression du champignon dans les tissus (Audenaert et al., 2013; Ponts, 2015).

## b) La fusariose de l'épi de blé

Le genre *Fusarium* regroupe les agents responsables de la fusariose de l'épi, l'une des maladies fongiques les plus dévastatrices affectant les céréales à petits grains comme le blé, l'orge, l'avoine ou le maïs. La fusariose de l'épi a été liée à au moins 17 espèces fongiques différentes (Parry et al., 1995) dont *F. graminearum*, l'espèce majoritaire rencontrée en Europe (Nielsen L. K. et al. 2011; Xu et al. 2008; Bottalico et Perrone 2002). Cette maladie se caractérise par des symptômes typiques sur les grains de blé : atrophiés et ridés, ils prennent une couleur grisée, rosée ou brune. L'infection par *F. graminearum* entraîne une perte de qualité des grains, les rendant impropres à la consommation conduisant à des pertes significatives de rendement. La contamination par *F. graminearum* se traduit également par une production de mycotoxines. Ce sont des métabolites secondaires toxiques. Les métabolites secondaires sont des molécules hétérogènes de faible poids moléculaire qui ne sont pas directement requis pour les fonctions essentielles de la vie des organismes qui les produisent (Brakhage, 2013), mais ils contribuent à la survie de l'organisme dans une niche écologique<sup>25</sup> particulière (Keller, 2019). La contamination, par l'infection et la production de mycotoxines, entraîne la perte totale de rendement sur une culture saine en seulement quelques semaines (McMullen et al., 1997). Pour la période de 1998 à 2002, la perte de rendement a été estimée à 2,7 milliards de dollars en Amérique du nord (Nganje et al., 2002; Wilson et al., 2018). En Europe (Johns et al., 2022), sur la durée de 2010 à 2019, le déoxynivalenol ou DON, mycotoxine produite par *F. graminearum*, a été détecté dans la nourriture issus de blé avec une occurrence moyenne de 47% avec une contamination plus importante dans les latitudes plus élevées (69 à 93% en Suède, au Royaume-Uni et au Danemark). C'est pourquoi *F. graminearum* a été classé quatrième phytopathogène fongique mondiale (Dean et al., 2012). Comme précisé précédemment, l'infection du blé par *F. graminearum* a lieu pendant l'anthèse avec des conditions de température et d'humidité très importante. Par exemple, une période de 6h d'humidité plus importante autour de l'épillet de blé induit une apparition de 20% d'épillets fusariés. Cette incidence augmente jusqu'à 42% lorsque la durée d'exposition passe à 36h (Xu et al., 2007). Aussi, certaines études faisant un lien entre changement climatique et fusariose prédisent que l'anthèse du blé devrait être plus précoce, coïncidant avec un temps plus chaud et plus humide, ce qui augmenterait l'incidence et la gravité des épidémies (Madgwick et al., 2011).

---

<sup>25</sup> Place occupée par une espèce dans un écosystème. Un écosystème est un système qui se compose d'un ensemble d'organismes vivants, la biocénose, et de l'environnement physique où ils vivent, le biotope.



### 3. Méthodes de lutttes contre la fusariose

Afin de limiter et gérer l'infection de la fusariose et des mycotoxines associées, il est essentiel de définir des stratégies efficaces, sûres et durables. Ces stratégies s'attellent à restreindre les facteurs environnementaux favorables à l'infection par *Fusarium*, à renforcer la résistance des plantes à son invasion, et à exercer un contrôle direct sur ce champignon pathogène. La combinaison de ces différents leviers d'action est cruciale, car une seule approche s'avère souvent insuffisante.

#### a) Pratiques culturales

Les pratiques culturales sont un facteur majoritaire dans l'établissement de la maladie, *F. graminearum* étant capable de survivre dans les résidus de cultures. Des méthodes agronomiques comme le travail du sol et la rotation des cultures permettent de réduire le risque d'infection et contamination en mycotoxines (Champeil et al., 2004). La rotation des cultures implique d'intercaler des cultures non-hôtes de *Fusarium*, notamment le soja, avec des cultures hôtes comme le blé, le maïs ou l'avoine. Le choix de cultures générant moins de résidus permet la limitation du développement de l'inoculum primaire de *F. graminearum*. C'est le cas du soja bien que certaines études aient démontré sa capacité à être hôte de *F. graminearum* (Pioli et al., 2004). Les effets du travail du sol sont également bien connus. Il a été démontré qu'un travail de surface des sols augmente la fréquence de la fusariose de l'épi alors qu'un travail profond la diminue (Dill-Macky and Jones, 2000). Un travail superficiel entraînerait une augmentation de 10 fois le niveau de DON sur maïs d'après une étude menée en Bavière. Le travail profond induirait aussi une diminution des niveaux d'inoculum primaire (Obst et al., 1997).

#### b) Choix variétaux

L'utilisation de variétés de céréales résistantes à la fusariose apparaît comme une solution efficace et prometteuse. Pour le moment, aucune variété de blé n'a été identifiée avec une résistance ou une immunité totale à la fusariose de l'épi. La résistance à la fusariose de l'épi de blé est classée en 5 types : résistance à l'infection initiale (type I), résistance à la propagation de l'infection dans l'épi (type II), résistance à l'accumulation de mycotoxines (type III), résistance à l'infection du grain (type IV) et résistance à la perte de rendement (type V) (Wu et al., 2022). Les résistances de type I, II, III ont été retrouvées chez la variété de blé Sumai3, cultivar chinois ou Wangshuibai. Cette résistance est décrite comme étant quantitative,

contrôlée par plusieurs gènes (Dweba et al., 2017). De ce fait, de nombreuses stratégies se basant sur l'identification de QTL (Quantitative Trait Loci) ont été mises en place. Ici, les QTL sont définies comme des régions génomiques conférant un phénotype moins sensible à l'infection par *F. graminearum*. Plus de 100 QTL avec des effets majeurs ou mineurs ont été identifiés et cartographiés sur tous les chromosomes du blé (Buerstmayr et al., 2009).

### c) Actions antifongiques

Les choix variétaux et les pratiques culturales ne suffisent parfois pas à diminuer drastiquement l'infection et l'utilisation de fongicide devient nécessaire. De nombreux fongicides sont couramment utilisés pour réduire la fusariose de l'épi, notamment les triazoles dont fait partie le tébuconazole qui est l'un des plus utilisés dans le monde. L'application de ce type de fongicide diminue l'incidence de la fusariose et l'accumulation de mycotoxines mais ce n'est pas une garantie d'absence de maladie. Une utilisation non régulée des antifongiques peut entraîner une exacerbation de la fusariose (Yin et al., 2009). Par exemple, à cause d'une utilisation trop importante de tébuconazole, des souches résistantes de *F. graminearum* ont été détectées (Wei et al., 2014). De nouvelles stratégies d'utilisation d'antifongiques tendent à combiner ou à alterner les molécules (Sun et al., 2014).

Cependant, une des limitations à l'utilisation des fongicides est les potentiels effets secondaires sur l'homme car certaines molécules antifongiques ciblent des voies métaboliques communes entre les champignons et les humains (Dweba et al., 2017). C'est pourquoi le conseil européen a écrit une directive 2009/128/CE allant dans le sens de la réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires d'au moins 50% d'ici à 2025<sup>26</sup>. L'application de cette directive en France a fait l'objet de divers plans d'action : Ecophyto, Ecophyto II et Ecophyto II+ débuté en 2018. En novembre 2022, des données confirment la tendance à la baisse, observée depuis 2019, des ventes en volume de produits phytopharmaceutiques de synthèse<sup>27</sup>. A la lumière des avancées du plan Ecophyto II+, la recherche et l'innovation concourent dans le but de développer des alternatives respectueuses de l'environnement et de la santé humaine et animale : les agents de biocontrôle.

---

<sup>26</sup> <https://agriculture.gouv.fr/le-gouvernement-donne-une-nouvelle-impulsion-au-plan-ecophyto>

<sup>27</sup> <https://agriculture.gouv.fr/baisse-confirnee-depuis-2016-des-ventes-de-produits-phytosanitaires>

#### d) Méthodes alternatives

Afin de répondre aux incitations de l'Union Européenne et donc au plan Ecophyto II+, des méthodes alternatives voient le jour, sous forme d'agents de biocontrôle. En France, les agents de biocontrôle sont régulés par la loi. L'article L. 253-6 du code rural et de la pêche maritime définit les agents de biocontrôle comme étant « des agents et produits utilisant des mécanismes naturels dans le cadre de la lutte intégrée contre les ennemis des cultures ». Ces mécanismes de lutte comprennent les macro-organismes et les produits phytopharmaceutiques à savoir les micro-organismes, les médiateurs chimiques comme les phéromones et les substances naturelles d'origine végétale, animale minérale ou microbienne. Concernant les méthodes alternatives de la lutte contre la fusariose de l'épi, on retrouve l'utilisation de micro-organismes comme certaines bactéries ou champignons (Dweba et al., 2017). *Lysobacter enzymogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma* sp. sont connus pour produire une grande variété d'antibiotiques et d'enzymes actifs sur des organismes phytopathogènes. Par exemple *L. enzymogenes* C3 montre une réduction significative sur de l'infection sur l'épi en fleur, *in vitro* et en champ (Jochum et al., 2006). De plus, l'action de *P. fluorescens* sur *F. culmorum* induit une réduction de 74-78% de la quantité de DON dans les grains de blé et d'orge mais aussi de la sévérité des symptômes de la maladie de plus de 23% (Khan and Doohan, 2009). Enfin, en 2021, issu de macro-organisme, l'utilisation d'une défensine d'insecte (la tique) a fait l'objet d'une recherche innovante dans la lutte contre *F. graminearum*, plus respectueuse de l'environnement (Leannec-Rialland et al., 2021). Des études complémentaires au champ sont nécessaires afin de démontrer l'efficacité de cet agent de biocontrôle contre la fusariose de l'épi.

### 4. Les mycotoxines : préoccupation majeure et réglementation

#### a) Caractéristiques chimiques des toxines fusariennes

La plupart des espèces de *Fusarium* sont capables de produire des mycotoxines. Au sein des mycotoxines produites par le genre *Fusarium*, nous retrouvons les trichothécènes (TCT). Il existe quatre types de TCT : A (toxines T-2 et HT-2), B (déoxynivalenol, nivalenol), C et D. *F. graminearum* produit majoritairement des TCT de type B ou TCTB (Figure 9). Ce sont des sesquiterpénoides, des molécules carbonées (C15) toxiques composées d'un sesquiterpène tricyclique avec un groupement époxy sur les positions C12 ou C13 leur conférant leur toxicité (Cope, 2018; Desjardins and Proctor, 2007). Les formes majoritaires produites par *F. graminearum* sont le déoxynivalenol (DON) et ses formes acétylées en position C3 (3-acétyl-

déoxynivalénol, 3-ADON) ou en position C15 (15-acétyl-déoxynivalénol, 15-ADON), le nivalénol (NIV) et sa forme acétylée en C4 la Fusarénone X (F-X ou 4-ANIV) (Anderson et al., 1989; Y. Chen et al., 2019).

Une souche particulière de *F. graminearum* ne produira qu'un seul type de mycotoxine majeur et de dérivé acétylé : c'est le phénotype chimique ou chémotype. Ce déterminisme est génétique et lié au polymorphisme du gène *FgTri8*, codant un C-15 ou C-3 estérase (désacétylase), impliqué dans la production de DON/15-ADON ou DON/3-ADON. La production de NIV est déterminée par l'état fonctionnel des gènes *FgTri7* et *FgTri13*, rendus non fonctionnels par de multiples insertions et délétions chez les souches présentant des chémotypes DON/15-ADON ou DON/3-ADON (Alexander et al., 2011).

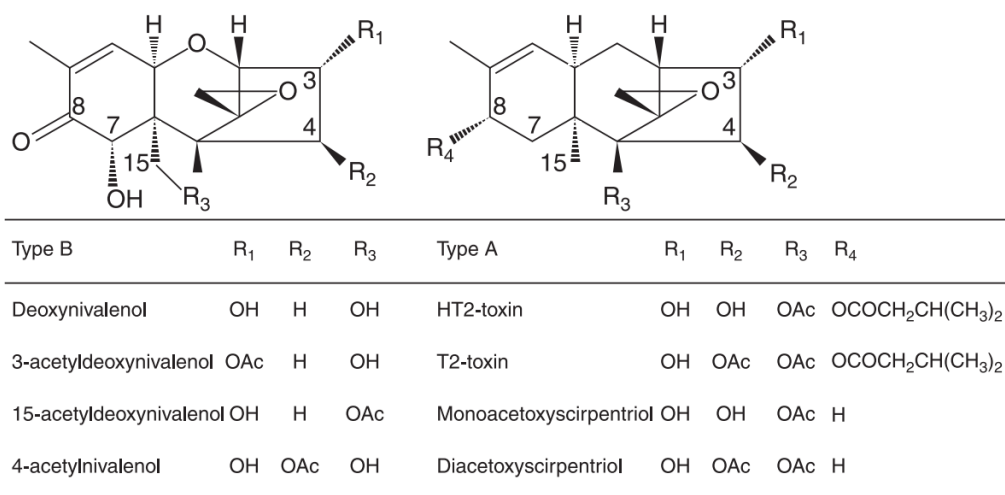


Figure 9 : Structures chimiques des trichothécènes de type A et B (Rychlik, 2012). La différence principale entre les TCTA et les TCTB résulte en la présence d'une fonction chimique cétone en C8 pour les TCTB.

## b) La voie de biosynthèse des TCTB

La biosynthèse du DON, de la NIV et de leurs formes acétylées débute par la cyclisation du farnésyl pyrophosphate, un composé issu du métabolisme des isoprénoïdes (Y. Chen et al., 2019). L'ensemble des réactions enzymatiques connues est présenté en Figure 10 avec, souligné en orange, les composés principaux décrits ci-après. Cette réaction est catalysée par la trichodiène synthase (*FgTri5*) qui est la première étape des neuf réactions en chaîne, en permettant la formation du composé central : la calonectrine. C'est à partir de cette molécule que les voies de biosynthèse des TCTB se différencient. En effet, les produits des gènes *FgTri7* et *FgTri13* catalysent l'oxygénation et l'acétylation en C4 permettant l'orientation de la voie

vers le chémotype NIV/4-ANIV. Ensuite, le produit du gène *FgTri1* puis *FgTri8* permet la synthèse de la NIV puis de sa forme acétylée (4-ANIV) successivement. Sinon, la voie du chémotype DON/ ADON est engagée et la calonectrine est catalysée par les produits des gènes *FgTri1* puis *FgTri8* formant successivement le 15-ADON ou le 3-ADON et enfin le DON (McCormick et al., 2011).

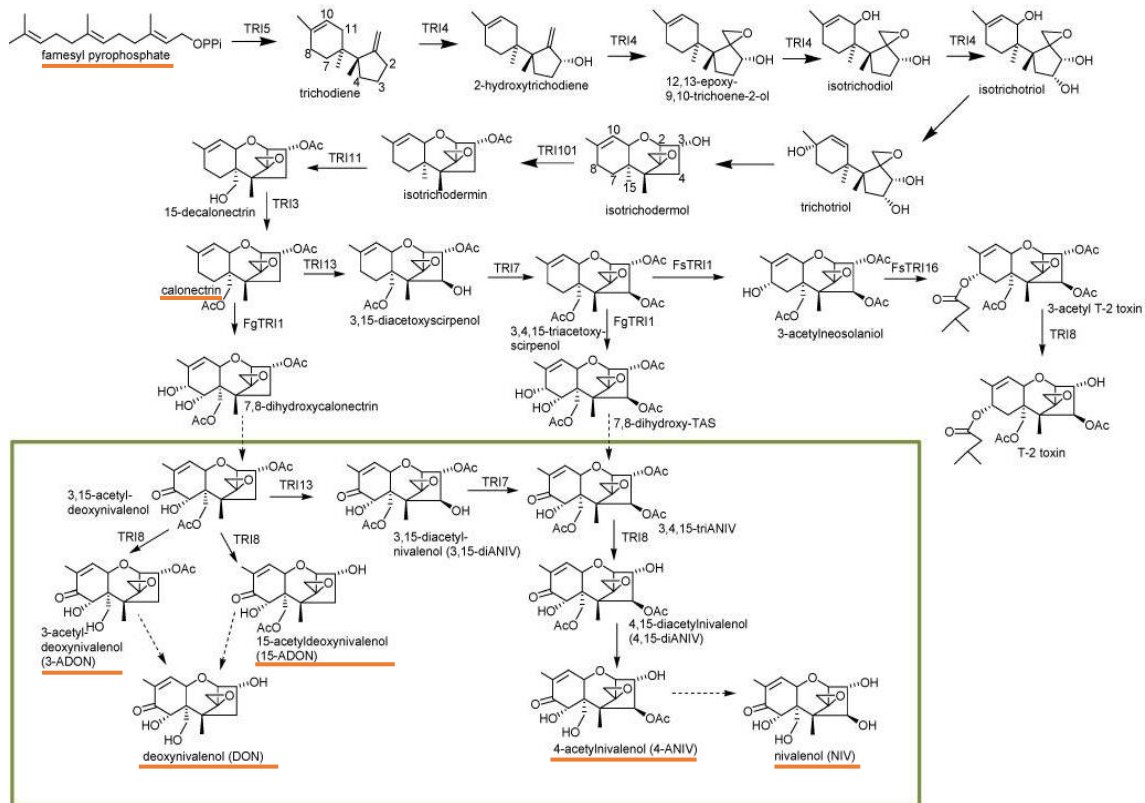


Figure 10 : Voie de biosynthèse proposée des trichothécènes chez *Fusarium*. Les gènes codant pour une étape enzymatique sont identifiés à proximité de la flèche indiquant l'étape. Les flèches pointillées indiquent les étapes pour lesquelles aucun gène n'a été attribué. La boîte verte identifie les trichothécènes de type B (adapté de (McCormick et al., 2011)).

### c) Préoccupation et réglementation

Ces mycotoxines sont une préoccupation majeure en raison de leur effet sur la santé humaine et animale. Si elles sont produites au champ lors du processus infectieux, elles persistent pendant le stockage et sont également résistantes aux processus de transformation agro-alimentaires (Vidal et al., 2015, 2014). Le DON possède une toxicité sur les ribosomes due à sa fixation sur la petite sous-unité ribosomique entraînant alors une inhibition de la production en protéines (Hooft and Bureau, 2021). De multiples études ont démontré l'impact du DON à court-terme (modification de la masse des individus, lésions localisées dans l'estomac

« vomitoxine ») et à long terme suite à une exposition chronique (effets reprotoxiques/tératologiques, cytotoxiques, génotoxiques et immunotoxiques) (Pierzgalski et al., 2021; Sobrova et al., 2010). Dans le but de protéger les consommateurs ainsi que le bien-être animal, des réglementations et recommandations sont mises en place dans la plupart des pays. Notamment en Union Européenne, le règlement (UE) 2023/915 de la commission du 25 avril 2023 détermine les teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires, abrogeant le règlement (CE) no 1881/2006 (“Règlement (UE) 2023/915,” 2023) (Table 1).

Table 1 : Teneurs maximales en DON dans les denrées alimentaires à base de céréales et de maïs (Journal officiel de l’Union européenne, règlement (CE) n°2023/915 de la commission du 25 avril 2023 (annexe).

| Déoxynivalenol  | Teneur maximale (µg/kg) | Remarques   |
|---|-------------------------|---|
| Grains de céréales non transformés, à l'exclusion des produits énumérés aux points 1.4.2 et 1.4.3   | 1250                    | À l'exclusion des grains de maïs non transformés destinés à être transformés par mouture humide et à l'exclusion du riz. La teneur maximale s'applique aux grains de céréales non transformés mis sur le marché avant qu'ils ne subissent une première transformation.  |
| Grains de blé dur non transformés et grains d'avoine non transformés  | 1750                    | La teneur maximale s'applique aux grains de céréales non transformés mis sur le marché avant qu'ils ne subissent une première transformation.   |
| Grains de maïs non transformés  | 1750                    | À l'exclusion des grains de maïs non transformés dont l'étiquetage ou la destination, par exemple, font clairement apparaître qu'ils sont destinés à être utilisés dans un processus de mouture humide (production d'amidon). La teneur maximale s'applique aux grains de céréales non transformés mis sur le marché avant qu'ils ne subissent une première transformation. |
| Céréales mises sur le marché pour le consommateur final, farine, semoule, son et germe de céréales en tant que produit fini mis sur le marché pour le consommateur final, à l'exclusion des produits énumérés aux points 1.4.7 et 1.4.8 | 750                     | À l'exclusion du riz et des produits à base de riz.   |
| Pâtes   | 750                     | Les pâtes désignent les pâtes (sèches) dont la teneur en eau avoisine 12 %  |
| Pain, pâtisseries, biscuits, collations aux céréales et céréales pour petit-déjeuner  | 500                     | À l'exclusion des produits à base de riz. Y compris les petits produits de boulangerie.   |
| Produits de mouture du maïs non mis sur le marché pour le consommateur final  |                         |   |
| Farine de maïs non mise sur le marché pour le consommateur final  | 1250                    | Au moins 90 %, mesurés en poids, des particules du produit de mouture ont une taille ≤ 500 µm.  |
| Autres produits de mouture du maïs non mis sur le marché pour le consommateur final   | 750                     | Moins de 90 %, mesurés en poids, des particules du produit de mouture ont une taille ≤ 500 µm.  |
| Aliments pour bébés et préparations à base de céréales destinés aux nourrissons et enfants en bas âge.  | 200                     | À l'exclusion des produits à base de riz. La teneur maximale s'applique à la matière sèche du produit tel que mis sur le marché.  |

## 5. Génomique à propos de *Fusarium graminearum*

### a) Généralité sur le génome

Le génome de *F. graminearum* (souche PH-1 d'origine américaine) a été séquencé pour la 1<sup>ère</sup> fois en 2007 grâce à la technologie Sanger donnant un assemblage de 433 contigs et de 31 supercontigs. Cependant des séquences étaient manquantes notamment dans les régions centromériques ou télomériques (Cuomo et al., 2007; Gale et al., 2005). Plus tard, en 2015, une étude a réalisé un reséquençage et un réassemblage à un niveau chromosomique du génome de *F. graminearum* (souche PH-1), (King et al., 2017, 2015) ainsi qu'une ré-annotation à partir

d'un séquençage d'ARN (RNAseq). Le génome nucléaire présente une taille de 37.9 Mb, tandis que le génome mitochondrial est de 95,6 kb. Le génome nucléaire est constitué de quatre chromosomes de tailles variables (Chromosome 1 : 11 760 938 bp, Chromosome 2 : 8 997 558 bp, Chromosome 3 : 7 792 947 bp et Chromosome 4 : 9 407 501 bp). Le Chromosome 4 s'avère dépourvu de séquence télomérique en région 3' et contient des séquences d'ADN ribosomique hautement répétées sur une longueur d'environ 1,38 Mb à son extrémité. L'annotation du génome a permis d'identifier 14 167 gènes codant des protéines, et peu de transposons (0.060%) et d'éléments répétés (0.24%) ont été détectés, à l'exception d'un rétrotransposon de type gypsy long-terminal-repeat (LTR). Une ré-analyse du génome de la souche PH-1 ainsi qu'une analyse d'une souche chinoise (FG-12) a montré un taux d'éléments répétés d'environ 2.23% et 1.68% respectivement (Hao et al., 2021). Enfin, l'analyse du génome n'a montré que très peu de duplication de gènes et un mécanisme de mutation nucléotidique de C:G vers A:T des séquences répétées (RIP : repeat-induced point mutation) actives permettant d'éliminer les séquences dupliquées (Cuomo et al., 2007; King et al., 2015; Waalwijk et al., 2017).

| Nom du gène                          | Nom fonctionnel                             | Annotation        | Position                         |
|--------------------------------------|---|-------------------|----------------------------------|
| Tri101                               | trichothecene 3-O-acetyltransferase         | FGRAMPH1_01G25923 | HG970335:4,805,149..4,806,504(-) |
| Tri1                                 | Calonectrin oxygenase                       | FGRAMPH1_01G00223 | HG970332:291,505..293,259(+)     |
| Tri16 ( <i>F. sporotrichioides</i> ) | C-8 acyltransferase                         | AY187275          | Souche :NRRL 3299                |
| Tri8                                 | trichothecene C-15 esterase                 | FGRAMPH1_01G13101 | HG970333:5,392,461..5,393,798(-) |
| Tri7 (production NIV)                | 3-acetyltrichothecene 4-O-acetyltransferase | FGRAMPH1_01G13103 | HG970333:5,395,009..5,395,867(+) |
| Tri3                                 | 15-O-acetyltransferase                      | FGRAMPH1_01G13105 | HG970333:5,396,677..5,398,444(+) |
| Tri4                                 | trichodiene oxygenase                       | FGRAMPH1_01G13107 | HG970333:5,399,398..5,401,139(-) |
| Tri6                                 | regulatory                                  | FGRAMPH1_01G13109 | HG970333:5,402,308..5,402,964(+) |
| Tri5                                 | trichodiene synthase                        | FGRAMPH1_01G13111 | HG970333:5,405,852..5,407,038(+) |
| Tri10                                | regulatory                                  | FGRAMPH1_01G13113 | HG970333:5,407,706..5,409,058(+) |
| Tri9                                 | Non connu (AF359360_10, TRI9)               | FGRAMPH1_01G13115 | HG970333:5,409,654..5,409,785(-) |
| Tri11                                | isotrichodermin C-15 hydroxylase            | FGRAMPH1_01G13117 | HG970333:5,410,953..5,412,693(-) |
| Tri12                                | trichothecene efflux pump                   | FGRAMPH1_01G13119 | HG970333:5,413,261..5,415,227(-) |
| Tri13                                | cytochrome P450                             | FGRAMPH1_01G13121 | HG970333:5,416,141..5,416,628(-) |
| Tri14                                | Virulence factor                            | FGRAMPH1_01G13123 | HG970333:5,418,308..5,419,477(+) |

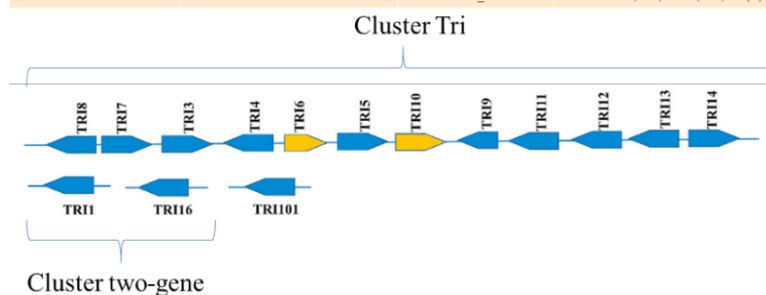


Figure 11 : Table avec annotation des gènes du cluster TRI et organisation sur le cluster de gène chez *Fusarium graminearum* (Kolawole et al., 2021), d'après l'annotation de la souche PH1, exploitée sur FungiDB.

*F. graminearum* est connu pour produire de nombreux métabolites secondaires dont les gènes impliqués dans cette production sont regroupés dans des clusters de gènes de biosynthèses (BCG). Leur expression est régulée, permettant la production des métabolites secondaires nécessaires à l'adaptation rapide du champignon à son environnement. Afin de retrouver des signatures de cluster de gènes, un scan du génome a détecté 67 clusters de gènes probablement fonctionnels (Sieber et al., 2014). Concernant le cluster de gènes *TRI* permettant la biosynthèse des TCT (Figure 11), l'ensemble des gènes ont été identifiés formant plusieurs groupes. En effet, ce cluster regroupe 15 gènes distribués sur 3 loci génomiques dont 12 appartiennent au cluster Tri, 2 au cluster « two genes » et le gène *FgTri101* isolé (Figure 11) (Y. Chen et al., 2019). La régulation coordonnée de l'expression de ce cluster de gène de biosynthèse dépend des stimuli environnementaux comme la lumière, le pH, la nutrition azotée (Merhej et al., 2012, 2010). Les gènes *FgTri6* et *FgTri10* ont été identifiés comme des facteurs de transcription, régulateurs positifs de l'expression des gènes du cluster Tri (Nasmith et al., 2011).

#### b) Plasticité génomique et potentiel adaptatif

Le génome de *F. graminearum* montre une plasticité singulière pour plusieurs raisons. D'abord, une analyse de génome entier sur différentes souches de ce champignon a permis de déceler un niveau de polymorphisme d'environ 4 SNP/Kb qui est semblable à d'autres champignons pathogènes (exemple *Puccinia striiformis*, ~5 SNPs/kb (Cantu et al., 2013)) (Cuomo et al., 2007; Laurent et al., 2017). Ensuite, le reséquençage du génome *F. graminearum* suggère une capacité de mutation importante avec 2 433 mutations détectées entre deux séquençages entiers du génome de la souche PH-1 espacés de 10 années (King et al., 2015). Ces mutations incluent 2025 SNPs avec un ratio de transition/transversion de 0,5555 indiquant que les substitutions nucléotidiques se produisent au même rythme (il y a deux fois plus de transversions possibles que de transitions). Deux cent vingt-six insertions et 182 délétions ont aussi été retrouvées. Les auteurs précisent que ces mutations observées peuvent être dues à des repiquages de la souche du fait de leur localisation regroupée dans certains loci. Dans une étude publiée en 2020, cette capacité de mutation a été retrouvée après délétion du gène H2A.Z<sup>28</sup>. Dix mutations compensatoires dans trois fonds génétiques différents ont été retrouvées et considérées comme ayant un bénéfice sur la fitness du mutant suggéré comme étant délétère (Chen et al., 2020). D'autres indices tels que des transferts horizontaux d'un cluster entier de gène entre *F.*

---

<sup>28</sup> Variante de l'histone canonique H2A.



*graminearum* et deux souches de *Botrytis fuckeliana* contribuent à la diversité génétique observée (Sieber et al., 2014). *F. graminearum* dispose d'une organisation génomique pouvant contribuer à sa capacité d'adaptation. Une étude de synténie sur *F. graminearum* a révélé que ses chromosomes sont largement colinéaires avec *F. verticillioides* et *F. oxysporum* (Ma et al., 2010; Zhao et al., 2014). Ces régions du génome de *F. graminearum* coïncident avec les régions ayant un taux de recombinaison plus élevé que d'autres régions ainsi que des hot spots de polymorphisme. Cependant, le taux de recombinaison moyen de *F. graminearum* de 39 centimorgan par mégabase (cM/Mb) (Laurent et al., 2018), comparé à *Z. tritici* un autre champignon phytopathogène du blé où le taux de recombinaison est de 130 cM/Mb (Lendenmann et al., 2014), ne reflète pas la diversité génétique observée le long des chromosomes. Aussi, il a été démontré que les gènes non spécifiquement exprimés lors de l'infection de l'hôte sont sur-représentés dans les régions avec de faibles taux de recombinaison alors que les gènes qui s'expriment de manière spécifique lors de l'interaction sont plutôt représentés dans des régions à fort taux de recombinaison (King et al., 2015). Cette structure particulière du génome de *F. graminearum* est appelée « génome à deux vitesses » (Laurent et al., 2018). Ces faisceaux d'indices fait de *F. graminearum*, un champignon phytopathogène avec un haut potentiel d'adaptation.

Différentes études de génétique des populations, réalisées en Europe, aux Etats-Unis ou en Amérique du Sud, ont révélé des niveaux élevés de diversité génétique. Bien que les populations de *F. graminearum* allemandes soient distantes entre elles d'environ 10 à 540km, une très faible mesure de la différenciation des populations ( $F_{st}=0.003$ ) a été retrouvée, similaire à des observations obtenues sur des populations américaines (max  $F_{st}=0.061$ ) et uruguayenne (max  $F_{st}=0.057$ ) (Pan et al., 2016; Talas and McDonald, 2015; Zeller et al., 2004). Cette diversité génétique observée est à mettre en adéquation avec un taux de fréquence élevé de reproduction sexuée entre les souches (panmixie) démontré dans des populations américaines (Ward et al., 2008). Les faibles niveaux de déséquilibre de liaison observés dans les populations sont une preuve supplémentaire d'une active recombinaison et donc de recombinaison sexuée (Pan et al., 2016). Enfin, une surveillance des populations américaines de *F. graminearum* a démontré un remplacement des populations productrices de 15ADON vers des populations produisant du 3ADON, plus toxigéniques et potentiellement plus agressives (Ward et al., 2008).

### c) Régulation par l'environnement / Senseur de l'environnement

*F. graminearum* est confronté, au cours de sa vie, à des changements environnementaux en lien avec l'environnement directement par les saisons ainsi que l'environnement de la plante hôte durant l'infection. En réponse aux fluctuations de température (de 5°C à 30°C), *F. graminearum* a montré une diminution significative de la germination, de l'extension du tube germinatif et de la production de DON (Ramírez Albuquerque et al., 2021a; Ramirez et al., 2004). La pression osmotique ou la disponibilité de l'eau est un facteur critique car *F. graminearum* rencontre différents niveaux d'humidité dans différentes niches écologiques, comme dans le sol autour des racines ou sur les feuilles et les inflorescences. La littérature a montré qu'une diminution de la disponibilité en eau (-0,7 à -14,0 MPa, aw=0,99 à aw=0,90) avec du glycérol, du sel ou du polyéthylène glycol (PEG) pouvait modifier la physiologie du champignon (Ramírez Albuquerque et al., 2022; Ramirez et al., 2006, 2004). Une diminution d'environ 50% du pourcentage de germination ainsi que de la vitesse de croissance est constatée lorsque le potentiel hydrique passe en dessous des -4 MPa à 25°C. En conditions contrôlées de laboratoire sur grains de maïs, la littérature rapporte notamment, pour des températures de 20 et 25°C, une augmentation de la production en TCT lorsque l'aw diminue (de 0.99 à 0.97) puis cette production s'effondre à aw=0.95. Ce n'est qu'à 30°C que la production en mycotoxines est forte et stable pour les aw de 0.99 et 0.97<sup>29</sup> avant de chuter drastiquement pour une aw=0.95.

*In planta*, certains résultats ont montré une augmentation significative de la fusariose ainsi que de la production en DON lorsque le taux d'humidité relative ambiante autour du stade de floraison du blé augmente (Cowger et al., 2009). Enfin, lors des interactions plante/pathogène, la reconnaissance du pathogène par l'hôte conduit à un « burst » oxydatif impliquant les mécanismes de défenses de la plante et notamment la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) comme le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Merhej et al., 2011). Chez *F. graminearum*, la présence d'agent oxydant (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) induit une augmentation de la production de DON, en lien avec une augmentation de l'expression de plusieurs gènes du cluster Tri. Les agents anti-oxydants comme la catalase vont diminuer l'expression des gènes Tri et la production de DON associée (Ponts et al., 2007, 2006).

Les réponses moléculaires apportées à ces modifications de l'environnement sont toutes aussi variées avec, dans certains cas, des recoupements de voies de signalisation. Une réponse rapide aux changements doit être envisagée au travers d'une modulation de l'expression des gènes.

---

<sup>29</sup> 47.5±0.7 (aw0.99) et 40.9±0.5 (aw0.97) à 4.5±0.3 (aw0.95) (moyenne±sd)

L'ensemble des voies de signalisation vont contrôler le développement végétatif, la virulence, la production de mycotoxines afin de répondre à l'environnement (Stepień and Lalak-Kańczugowska, 2021). Un premier exemple de voie de signalisation est la voie Target Of Rapamycin (TOR) jouant un rôle dans divers processus cellulaires, notamment l'intégrité de la paroi cellulaire, les métabolismes secondaires et la virulence chez les champignons phytopathogènes. La voie TOR répond aux nutriments et aux facteurs de croissance pour orchestrer le contrôle temporel de la croissance et la prolifération cellulaire ainsi que le maintien de l'homéostasie cellulaire. Chez *F. graminearum*, cette voie a été identifiée et ses composantes décrites comme la plaque tournante du contrôle temporel de la croissance, du développement végétatif et de la virulence sur des épis de blé (Yu et al., 2014).

La régulation de différents processus cellulaires comme la réponse au stress ou le sensing de l'environnement implique des voies connues tels que les « mitogen-activated protein » ou MAP kinases avec leurs activations en chaîne par des kinases et la voie de l'adénosine monophosphate cyclique – protéine kinase A (cAMP-PKA). Notamment, certaines réponses moléculaires au stress thermique ont été identifiées, notamment les protéines de choc thermique (HSP), telles que FgHSP90 (Bui et al., 2016), FgHSP70 et FgHSP30, ainsi que la voie de signalisation cAMP-PKA (cyclic AMP- protein kinase A) (Hu et al., 2014). Aussi, la voie cAMP-PKA faisant partie de la voie MAP, joue un rôle crucial dans la réponse au stress oxydatif, la régulation de l'accumulation de DON et la gestion des différences de pression osmotique. Impliquée dans de nombreuses réponses aux stress environnementaux mais aussi en lien avec la voie TOR, la voie HOG (MAPK) est engagée dans la réponse au stress osmotique et oxydatif (Gu et al., 2015; Van Nguyen et al., 2013; Zheng et al., 2012). Cette voie de signalisation intracellulaire est impliquée dans divers processus tels que la croissance des hyphes, les réponses au stress et l'infection des plantes. Les mutants de la voie FgHOG ont montré des défauts dans la vitesse de croissance ainsi que dans la morphologie des hyphes. Ces mutants présentent une virulence réduite et la propagation de l'infection dans les tissus végétaux est limitée (Y. Chen et al., 2019; Zheng et al., 2012). Aussi, la MAP kinase *gmpk1* est connue pour réguler la pathogénicité de *F. graminearum* sur le blé en activant le facteur Ras2. Ce dernier régule l'expression de *fgl1* codant une lipase sécrétée lors de l'infection du blé. Les mutants invalidés pour le gène *fgl1* ne sont pas capables d'étendre l'infection au niveau du rachis du blé et sont incapables d'infecter le maïs (Bluhm et al., 2007). La protéine kinase OS-2 chez *F. graminearum* est l'une des protéines spécifiques, centrale, activée en présence d'un environnement oxydant. Elle est impliquée dans les processus développementaux (formation

des périthèces, résistance aux fongicides) et aussi dans la production de DON en modulant le niveau des ROS. *In planta*, FgOS-2 induit la production de DON et la virulence des souches de *F. graminearum* sur blé (Nguyen et al., 2012; Stępień and Lalak-Kańczugowska, 2021).

D'autres facteurs comme le pH ou la luminosité influencent également les niveaux de production en métabolites secondaires et la croissance fongique. Le pH est un facteur environnemental qui peut fortement affecter la biosynthèse des trichothécènes au cours de l'infection. Même si aucune preuve *in planta* de la modification du pH au cours d'une infection n'a été rapportée, certaines données de cultures *in vitro* sont disponibles. Dans un milieu de culture synthétique liquide, *F. graminearum* provoque l'acidification du pH extracellulaire entraînant l'expression des gènes Tri et la production de trichothécènes (Merhej et al., 2010). En revanche, un pH neutre ou alcalin bloque la production des trichothécènes en réprimant les gènes Tri (Gardiner et al., 2009b). Cette inhibition est médiée par le facteur de transcription *FgPAC1*. Ce facteur possède des séquences consensus « GCCARG » identifiées au sein de nombreuses régions, bien positionnées dans le promoteur de divers gènes Tri (voir Figure 7), y compris le régulateur spécifique de la voie, Tri6 (Figure 12).

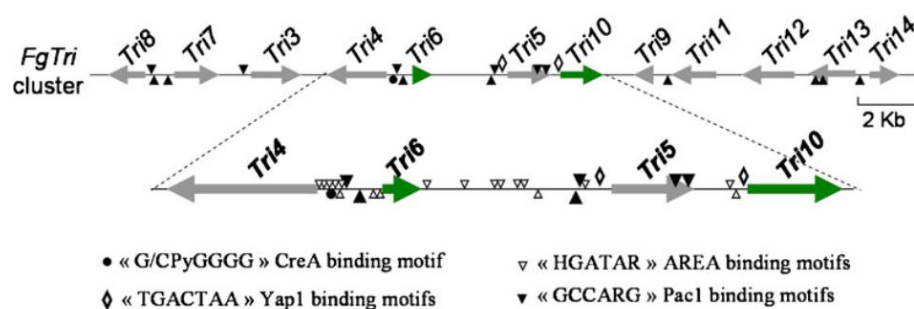


Figure 12 : Motifs associés aux facteurs de transcription retrouvés au sein du cluster de gène Tri. Les flèches vertes représentent les gènes codant des facteurs de régulation du cluster TRI, *FgTri6* et *FgTri10*. Les motifs de type triangle, losange et cercle représentent les différentes séquences consensus de fixation des différents facteurs de transcriptions agissant sur le cluster TRI (Merhej et al., 2011).

La lumière représente une source d'information pour les champignons régulant les niveaux de production des métabolites secondaires ainsi que dans l'activation et l'inhibition du développement sexué et asexué (Kim et al., 2014; Yu et al., 2023). Présent chez d'autres champignons filamenteux, le complexe Velvet est responsable de cette réponse. Ce complexe est constitué des protéines VelB/VeA/LaeA. VelB et VeA sont localisées dans le cytoplasme

en présence de lumière et transloquées dans le noyau à l'obscurité. VelB/VeA forment alors un complexe avec LaeA, un master régulateur positif de la production de métabolites secondaires chez les champignons filamenteux (Bayram et al., 2008). Chez *F. graminearum*, *FgVeA* a été démontré comme étant impliqué dans la conidiation et la germination, dans la production de pigments (aurofusarine), associée à la voie HOG en réponse à une augmentation de la pression osmotique et à la production de DON à l'obscurité (Y. Chen et al., 2019; Jiang et al., 2011; Merhej et al., 2012). Un autre photo récepteur a été identifié chez *F. graminearum* : le « White-collar » récepteur. Les gènes *FgWC-1* et *FgWC-2* codant les protéines du même nom, interagissent physiquement entre elle pour former un complexe hétérodimérique. Il a été démontré que quel que soit l'état de lumière, ces protéines jouent un rôle d'inhibition de la biosynthèse des trichothécènes et d'aurofusarine. L'activation de la conidiation semble aussi médiée par les protéines *FgWC-1* et *FgWC-2* (Kim et al., 2014).

Enfin, comme nous en avons discuté en amont dans cette introduction, le changement des pratiques agronomiques dans la culture des céréales peut induire des modifications de l'environnement de *F. graminearum*. La modification des pratiques culturales passant par l'ajout d'engrais à forte concentration en azote (fertilisant) peut ainsi augmenter l'infection des cultures céréalières par *F. graminearum*, même si les résultats ne sont pas constants. Certaines études ont montré que l'application de nitrate d'ammonium n'a pas d'effet sur la fusariose de l'épi de blé tandis que l'application de nitrate d'ammonium en solution d'urée augmente la sévérité de la maladie. Ces différences peuvent être liées aux méthodes employées notamment en lien avec l'humidité apportée autour de la floraison du blé (Maywald et al. 2023). Une étude à long terme de l'impact de la fertilisation en azote des sols pour des cultures de blé a montré une augmentation de l'abondance relative au cours du temps du taxa affilié genre *Fusarium* (S. Chen et al., 2019). En culture *in vitro*, dans des conditions variables de concentration d'azote ainsi que de la source elle-même, *F. graminearum* a montré des différences dans la croissance et la production de DON. L'agmatine, l'arginine, l'ornithine et la putrescine font partie des sources d'azote non minéral induisant fortement la production de DON contrairement à la valine, la tyrosine, l'adénosine (Gardiner et al., 2009a). Les voies métaboliques ainsi que les gènes responsables de ces réponses phénotypiques sont en partie connus chez *F. graminearum*. Lorsque la source préférentielle d'azote est faible ou absente, les gènes correspondant au métabolisme secondaire, qui sont généralement systématiquement réprimés, sont dé-réprimés permettant la métabolisation par le champignon d'une nouvelle source d'azote. Différents acteurs de la réponse à l'azote chez *F. graminearum* ont été retrouvés. Deux facteurs de

transcription majeurs régulant le métabolisme azoté ont été retrouvés : *FgAreA* et *FgAreB* (Hou et al., 2015). *FgAreA* permet l'induction des voies de biosynthèses des métabolites secondaires dont l'induction de la production de DON. Ce facteur de transcription agit avec le régulateur *FgTri10* régulant indirectement l'expression d'autres gènes Tri (Figure 11). *FgAreB* est quant à lui dépendant de l'azote en interagissant physiquement avec *FgAreA*. D'autres facteurs de transcription (GATA) et l'activité du complexe TOR sont impliqués dans la régulation de la croissance et de la production en DON en fonction de l'environnement azoté (Brauer et al., 2020).

A partir de l'ensemble de ces éléments, nous pouvons nous demander quels indices probants de la plasticité phénotypique chez *F. graminearum* existent ?

Ainsi, chez *Fusarium* spp et *F. graminearum* en particulier, la modification de pH et de température de culture modifient la vitesse de croissance ainsi qu'une différence de pigmentation (Panwar et al., 2016). Deux articles de Ramirez Albuquerque ont montré, sur une souche isolée de blé, différentes concentrations de production de toxines en fonction de plusieurs conditions de température (10°C à 30°C) et de disponibilités en eau ( $a_w=0.99$  et  $a_w=0.95$ ). Ils ont aussi montré que la souche présentant un chémotype génétique 15ADON produisait aussi du 3ADON en fonction des conditions de croissance (Ramirez Albuquerque et al., 2022, 2021a). Une autre étude réalisée sur 2 souches, isolées de blé, expose une analyse de variance entre les souches et les conditions de culture (différentes températures et disponibilité de l'eau). Cette analyse a montré des différences significatives de la croissance des deux souches entre elles (génotype), entre les deux conditions (environnement) et dans l'interaction entre ces deux facteurs (GxE). Les auteurs n'ont pas précisé la part de la variance attribuée à ces facteurs (Ramirez et al., 2006). *In planta*, les effets du CO<sub>2</sub> atmosphérique et de la température sur la sensibilité du blé et du maïs à l'infection et à la production de toxines par 2 souches de *F. graminearum* ont été analysés. L'analyse de variance a montré des différences significatives dans l'interaction « souche X conditions ». Il y a donc de la variation génotypique dans les caractères susmentionnés en fonction des différentes conditions (Hay et al., 2021). Aussi, entre plusieurs espèces de *Fusarium* (*F. graminearum*, *boothii* et *meridionale*), une analyse de variance de la croissance et de production de mycotoxines, dans des conditions similaires aux précédents articles, n'a pas montré de différence génétique dans la variation de croissance intra-espèces d'une part et aucune analyse de variance intraspécifique avec les interactions environnementales n'a été réalisé d'autre part (Belizán et al., 2019). Ici la variation

génétique des différentes espèces induit des variations significatives dans la production de mycotoxines et dans la croissance.

**Objectifs**

**Et**

**Résultats**



## Objectifs de la thèse

L'objectif de ce projet de thèse est d'étudier le potentiel adaptatif de *Fusarium graminearum* face à des stress abiotiques environnementaux, potentiellement liés aux changements climatiques. Le potentiel adaptatif d'une espèce est lié à sa capacité d'évolution génétique (diversité génétique dans la population, dynamique mutationnelle, organisation du génome ...) mais également à sa plasticité phénotypique. Du point de vue du pathogène, si les changements climatiques s'intensifient, ils pourraient engendrer une augmentation globale de la pression parasitaire et l'équilibre entre la plante, *F. graminearum* et l'environnement se modifierait. La compréhension de la capacité d'adaptation de *F. graminearum* face au changement climatique est un enjeu important. Ainsi, une meilleure connaissance du potentiel évolutif de l'espèce nous permettrait de mieux anticiper le risque épidémique lié à l'émergence potentielle de nouveaux isolats adaptés.

Je me propose d'étudier la plasticité phénotypique de *F. graminearum* en tant que composante primaire de la réponse adaptative. D'une part, il s'agira de caractériser la plasticité phénotypique du champignon face à une gamme de variations de différents paramètres environnementaux potentiellement liés au changement climatique (proxis *in vitro*). Je vais notamment étudier quel est le degré de plasticité observée en termes d'interaction GxE sur la base d'analyses quantitatives entre les différents environnements, les génotypes et les caractères étudiés. Je déterminerai si certaines souches semblent plus adaptées à des conditions environnementales stressantes. D'autre part, je définirai les déterminismes génétiques et moléculaires sous-jacents par une approche de génomique des populations exploitant une collection de souches : l'association pangénomique (GWAS).

Dans une seconde étude, je vais m'intéresser au potentiel adaptatif génétique possiblement mis en œuvre en réponse à une modification de l'environnement. J'étudie la dynamique mutationnelle de *F. graminearum* au travers d'une étude d'évolution expérimentale. L'effet d'une pression de sélection thermique sur la dynamique mutationnelle sera évalué par comparaison des génomes et des phénotypes des souches évoluées par rapport à la souche ancestrale.

L'intégration de ces données a permis de répondre aux questions posées sur la plasticité phénotypique et de la part génétique impliquée ainsi que le potentiel adaptatif génétique. Nous discuterons de l'implication de ces travaux à différentes échelles de l'interaction du

champignon avec son environnement, aussi bien abiotique que biotique et les possibles conséquences sur la fusariose.

# Chapitre 1 : Plasticité Phénotypique

## 1. Introduction

Dans ce chapitre, le lecteur trouvera la synthèse de la caractérisation ainsi que la recherche de l'architecture génétique sous-jacente de la plasticité phénotypique. Les résultats de cette recherche font l'objet d'un manuscrit soumis pour publication dans le journal *Molecular Ecology* « Phenotypic plasticity in the fungal pathogen *Fusarium graminearum* is involved in the adaptive response to changing environments ». Plusieurs questions seront posées :

- Quel est le degré de plasticité des souches face à des conditions abiotiques différentes ? Existe-t-il une variabilité génétique et environnementale pour la plasticité phénotypique ? Est-ce qu'un caractère est plus plastique qu'un autre ?
- Dans l'hypothèse où la plasticité phénotypique est sous déterminisme génétique, quels variants génétiques seraient impliqués dans la plasticité des souches face aux conditions abiotiques ? Et peut-on identifier de nouveaux gènes responsables des caractères mesurés par la méthode du GWAS ?
- D'après la littérature, les bases génétiques de la plasticité phénotypique peuvent reposer sur différents modèles notamment le modèle de la sur-dominance, de la pléiotropie et de l'épistasie. D'après notre étude, est-ce qu'une architecture génétique particulière faisant référence à un modèle des bases génétiques de la plasticité phénotypique se dessine ?

2. Article : Phenotypic plasticity in the fungal pathogen *Fusarium graminearum* is involved in the adaptive response to changing environments

**Phenotypic plasticity in the fungal pathogen *Fusarium graminearum* is involved in the adaptive response to changing environments.**

Running title: Phenotypic plasticity in *Fusarium graminearum*

Antoine Vajou<sup>1</sup>, Thomas Dumartinet<sup>2</sup>, Magalie Moinard<sup>1</sup>, Romain Valade<sup>3</sup>, Marie Foulongne-Oriol<sup>1\*</sup>

1 INRAE, MycSA, F-33882 Villenave d'Ornon, France

2 Université de Bordeaux, INRAE, BIOGECO, F-33612, Cestas, France

3 Arvalis Institut du Végétal, Laboratoire GenoPaV, 91720 Boigneville

\* Corresponding author

Mailing address : INRAE, UR1264 Mycologie et Sécurité des Aliments, bâtiment Qualis, 71 avenue Edouard Bourlaux, CS 20032, F-33882 Villenave d'Ornon cedex, France

Phone : +33 (0)5 57 12 26 35

Fax : +33 (0)5 57 12 25 00

E-mail : marie.foulongne-oriol@inrae.fr

words count: 7801

## **Abstract**

Climate change is expected to greatly modify the population dynamic of plant pathogens. Understanding how pathogens are able to adapt to modifications of their environment is crucial to anticipate the emergence of new disease epidemics. *Fusarium graminearum* is one of the main causal agents of the Fusarium Head Blight, a worldwide disease affecting cereal cultures, whose presence can lead to contaminated grains with chemically stable and harmful mycotoxins. In order to characterize the adaptive potential of *F. graminearum*, we focus on the phenotypic plasticity which may be the first response to variation of environment. First, the phenotypic plasticity was characterized under in vitro fluctuating abiotic conditions (temperature, water availability, oxidative) mimicking environments to which the fungus may be exposed during its life cycle. Using a metapopulation of 103 *F. graminearum* strains we assessed the phenotypic variation for 10 quantitative traits related to mycotoxin productions and growth kinetic. For all, interaction between genotype and environment (GxE) was found significant accounting for 15% in median of the total phenotypic variance, confirming large phenotypic plasticity. Also, we found genotypic variation of the phenotypic plasticity for all traits indicating a genetic architecture of the phenotypic plastic. Then, to unravel the genetic determinism of the phenotypic plasticity, we used Genome Wide Association Study (GWAS) and found multiples SNPs and candidates genes. Our study suggests that the phenotypic plasticity that exists in *F. graminearum* plays an important role in the fungal response to fluctuating environments and is likely to be adaptive.

## **Keywords**

Climate change, norms of reaction, genome wide association studies, adaptation, abiotic stress, candidate genes, mycotoxins.

## Introduction

Phenotypic plasticity is the ability of an organism with a given genotype to express more than one phenotype in response to different environmental conditions (Pigliucci, 2005; West-Eberhard, 1989). The persistence of an organism in a novel environment is tightly linked to its phenotypic plasticity (Ghalambor et al., 2007; Price et al., 2003; Sultan, 2000). Depending on how closely the new phenotype produced in the fluctuating environment approaches the phenotypic optimum, the phenotypic plasticity can either be adaptive or maladaptive, resulting in directional selection or the expression of cryptic genetic variation (Murren et al., 2015). The adaptive potential can be defined as the ability of species or populations to respond to selection by means of phenotypic or molecular changes in response to an environmental constraint (Eizaguirre & Baltazar-Soares, 2014). While mutations can drive adaptation, they might not explain short-term responses occurring within a single lifetime (Barrett & Schluter, 2008). Phenotypic plasticity can facilitate adaptation by increasing population size in the novel environment and by providing phenotypic variation before genetic mutations arise (Chevin et al., 2010). It has been hypothesized that phenotypic plasticity is the first response that drives adaptation, and that such response is encoded in the genome and may therefore be heritable (Bradshaw, 2006). Phenotypic plasticity is increasingly being studied for its involvement in the adaptation of species to global change and its influences on the adaptive value of a species (Gibert et al., 2019).

Dissecting the genetic architecture of the phenotypic plasticity is crucial to better understand the adaptive capacity of a species and the short- and long-term responses (Kovuri et al., 2023). Three genetics models for phenotypic plasticity have been proposed: the overdominance model, the allelic sensitivity (or pleiotropic) and the regulatory gene (or epistasis) model (El-Soda et al., 2014; Pigliucci, 2005; Scheiner, 1993). Several methods have been explored to decipher the phenotypic plasticity (Gibert et al 1998, Valladares et al 2006). One of the commonly used methods developed to measure it is to dissect the explained phenotypic variation as a combination of effects of the genotype (G), the environment (E), the genotype-by-environment interaction (GxE) and a residual error. A significant GxE stands for the expression of a phenotypic plasticity (DeWitt & Scheiner, 2005). In an agronomic context, these methods can be used to measure the ability of plant pathogens to adapt to an environment and prevent major crop losses. These phenotypic plasticity concepts have been used to improve agronomic traits in several crops (Mangin et al., 2017; Tan et al., 2020).

Phytopathogenic fungi are responsible for serious plant diseases which can have a major impact on crop productivity around the world (Doehlemann et al., 2017). Plant diseases result from interaction between pathogen, host plant and environment. In a changing environment, abiotic variations influence the distribution and virulence of the plant's pathogen (Chakraborty, 2013). For example, it has been reviewed that elevated temperature could be associated with a decrease in plant immunity which may lead to an increase of the pathogen infection (Singh et al., 2023). Understanding how phytopathogenic fungi could adapt to this new environment remains a crucial issue in the current context of climate change. Fungi are known to adapt easily to their environment, mainly due to large effective population size and mixed reproductive system (sexual and asexual) (McDonald & Linde, 2002). Only a few studies dealing with characterization of phenotypic plasticity were carried out to date (Castiblanco et al., 2020; Corwin et al., 2016; Gallo et al., 2022; Slepecky & Starmer, 2009). The involvement of phenotypic plasticity as a first adaptive response in fungi remains poorly explored. One hypothesis of such adaptation has been made and was linked to the difference in phenotypic plasticity of same species strains which had experienced different microclimate on the soil/litter where they were isolated (Alster et al., 2021).

*Fusarium graminearum* is a haploid ascomycete fungus and one of the major causal agents of the Fusarium Head Blight disease, affecting cereal-growing areas around the world and causing a significant reduction in yield (Dean et al., 2012). This species is well-known for its mycotoxins production such as the family type B trichothecenes (TCTB), including deoxynivalenol (DON) and its acetylated forms (ADON), which constitute an important food contaminant (Liao et al., 2018; Sobrova et al., 2010). *F. graminearum* is considered as a hemibiotrophic pathogen of which ascospores or macroconidia (asexual conidia) are known to be the survival state over-winter on previous crop residues. In spring, under favorable conditions of temperature and water availability (Brennan et al., 2003, 2005), spores are dispersed by wind or rain splashes landing on susceptible plant tissue as spikelets throughout the flowering stage (Boenisch & Schäfer, 2011). During its biotrophic phase, *F. graminearum* grew intercellularly and asymptotically. The fungus changed for an intracellular necrotrophic phase with DON production, leading to hydrogen peroxide production and plant cell death by oxidative burst activation (Walter et al., 2010). *F. graminearum* is exposed to various abiotic stresses in its natural environment, along its life cycle (temperature fluctuations, osmotic conditions ...) (Cowger et al., 2009; Ramirez et al., 2004, 2006).

The phenotypic plasticity in *F. graminearum* has been poorly documented. For example, Ramirez et al. (2006) showed significant GxE interactions, suggesting phenotypic plasticity, for mycelium growth measured under multiple temperature and water activity but this study was done only on two genotypes. Here, we provide new insight about phenotypic plasticity as a driver for possible *F. graminearum* adaptation in response to different abiotic environments. We first characterized phenotypic plasticity for in vitro growth and mycotoxin production in a large panel of *F. graminearum* strains in response to variation of either temperature, water availability or oxidant exposure. In this way, we expected to be able to answer questions here after: (1) Do genotypes differ in their plastic response to a given environmental gradient? (2) Do different environmental gradients show similar effects on a given trait? (3) Do different traits show similar plastic responses to a given environmental gradient? (4) Are some genotypes more plastic than others across all traits? Furthermore, we conducted a genome-wide association study (GWAS) to dissect the genetic architecture underlying plasticity traits. Understanding the genetic architecture of phenotypic plasticity in *F. graminearum* holds significant importance as it provides valuable insights into the adaptive potential of this pathogen in response to changing environmental conditions. This knowledge can contribute to the development of strategies for disease management and crop protection, ultimately helping to mitigate the impact of Fusarium Head Blight on global food security. To the best of our knowledge, this is the first study that aims to characterize the extent of the phenotypic plasticity and explore how such responses may play a significant role in adaptive potential of a fungal pathogen.



## **Material and methods**

### Fungal collection and inoculum

One hundred and three strains of *F. graminearum* were used for the experiments. All but one strains were isolated from the past two decades (1997 to 2021) in 27 French departments from either wheats or triticale. The last one came from Belgium. Metadata associated with fungal isolates are available in Table S1. Fungal strains were maintained at 4 °C on Potato Dextrose Agar (PDA) culture. Inoculum conidia were prepared by inoculating agar plugs in SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar) liquid medium, incubating at 180 rpm and 25 °C for seven days. Then conidia were harvested by filtration using Sefar Nitex 40µm (SEFAR AG, Heiden, Switzerland) and washed with MS-Sucrose (synthetic media, 20g/L Sucrose, 0.5g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.6g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 17mg/L MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1g/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 10µg/mL Vogel mineral salts solution). Finally, we adjusted the concentration at 8x10<sup>5</sup> spores/mL in 1 mL cryotube with 20% glycerol final and frozen them at -80°C for future experiments.

### Phenotyping and plasticity assessment

All strains were phenotyped under three abiotic changing environments (E): elevated temperature, oxidative and hydric restriction conditions referred hereafter as E1, E2 and E3 respectively. The elevated temperature is characterized by a suboptimal temperature of 30°C compared to standard culture conditions (25°C). Oxidative condition is performed by adding hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) treatment at 0.5mM, at 25°C. Finally, the hydric restriction condition is fulfilled by adding glycerol to the media. The amount of glycerol was chosen using the Norrish equation with a coefficient of -1.16 adapted for the glycerol (Norrish, 1966). We added 119 mL of glycerol for 1000mL final of medium in order to get a water availability of 0.970.

Two phenotypes were studied here: mycotoxins production (Toxin) and growth kinetics (Kinetic), and for each one, several traits have been measured (Table 1). Toxin phenotype was assessed as follows. For each condition, the mycotoxins assessment consisted of individual liquid culture, in triplicate for each genotype, of 8 mL of MS-Sucrose inoculated with 10<sup>4</sup> spores/mL. Fungal liquid cultures were incubated in the dark for 14 days. After, the mycelium was harvested by centrifugation then freeze-dried during 72h for biomass quantification. Mycotoxins extractions were performed on the supernatant. Culture media were stored at -20 °C until TCTB analysis. TCTB were extracted on 4 mL of culture medium with 8 mL ethyl acetate. The organic phase was evaporated to dryness with a speedVac (SPD210, Thermo

Scientific) at 50°C. Dried samples were dissolved in 400 µL of methanol/water following a standard laboratory protocol already describe (Leannec-Rialland et al., 2021). TCTB were quantified by HPLC–DAD using an Agilent Technologies 1100 series liquid chromatograph equipped with an autosampler system, an Agilent photodiode array detector (DAD) and the ChemStation chromatography manager software (Agilent, France). Separation was achieved on a Kinetex XB-C18 100 Å column (4.6 × 150 mm, 2.6 µm) (Phenomenex, France) maintained at 45 °C. The mobile phase consisted of milliQ water (solvent A) and acetonitrile (solvent B). The flow was kept at 1 mL.min<sup>-1</sup>. The injection volume was set to 5 µL. TCTB were separated using a gradient elution as follows: 7–30% B in 6 min, 30–90% B in 2 min, 90% B for 2 min, 90–7% B for 1 min, 7% B for 6 min. Quantification was performed by external calibration with standard TCTB solutions (Romer Labs, Austria). We were able to extract the mycotoxins production (sum of TCTB, DON and ADON (sum of acetylated TCTB forms) in micrograms per mL of culture, the biomass production in grams and the ratio DON/ADON.

Table 1: Traits and associated variables studied in each phenotype category. E refers to environment unit (E1 = °C, E2 = mM, E3 = aw).

| Phenotype                      | Variable        | Trait  | Unit  |
|--------------------------------|-----------------|--|---|
| <i>Raw experimental data</i>   |                 |  |   |
| Toxin                          | ADON            | Acetylated forms of deoxynivalenol                                       | µg.mL <sup>-1</sup>                                 |
|                                | Biomass         | Mycelium weight 14 dpi   | g   |
|                                | DON             | Deoxynivalenol production  | µg.mL <sup>-1</sup>                                 |
|                                | Ratio_DON/ADON  | Ratio between DON and ADON mycotoxins                                    | No unit   |
|                                | Biomass         | Mycelium weight 14 dpi   | g   |
| Kinetic                        | ASYM            | Asymptote maximal of kinetics growth                                     | Optical_Density                                     |
|                                | AUC             | Area Under the growth Curve  | Optical_Density.Hour                                |
|                                | LATENCY         | Lag phase before exponential growth                                      | Hour  |
|                                | OD_4D           | Optical density at 4 days of culture                                     | Optical_Density                                     |
|                                | SPEED           | Speed growth in the exponential growth phase                             | Optical_Density.Hour <sup>-1</sup>                  |
| <i>Plasticity related data</i> |                 |  |   |
| Toxin                          | DONp            | Plasticity calculated by the norm of reaction for all variables          | µg.mL <sup>-1</sup> .E <sup>-1</sup>                |
|                                | ADONp           |  | µg.mL <sup>-1</sup> .E <sup>-1</sup>                |
|                                | TCTBp           |  | µg.mL <sup>-1</sup> .E <sup>-1</sup>                |
|                                | Ratio_DON/ADONp |  | No unit   |
| Kinetic                        | Biomassp        | Plasticity calculated by the coefficient of plasticity for all variables | g.E <sup>-1</sup>                                   |
|                                | AUCp            |  | Optical_Density.Hour. E <sup>-1</sup>               |
|                                | OD_4Dp          |  | Optical_Density.E <sup>-1</sup>                     |
|                                | ASYMp           |  | Optical_Density.E <sup>-1</sup>                     |
|                                | SPEEDp          |  | Optical_Density.Hour <sup>-1</sup> .E <sup>-1</sup> |
| Toxin                          | LATENCYp        | Plasticity calculated by the coefficient of plasticity for all variables | Hour.E <sup>-1</sup>                                |
|                                | DON_coef        |  | No unit   |
|                                | ADON_coef       |  |   |
|                                | TCTB_coef       |  |   |
|                                | Ratio           |  |   |
|                                | DON/ADON_coef   |  |   |
|                                | Biomass_coef    |  |   |
| Kinetic                        | AUC_coef        | Plasticity calculated by the coefficient of plasticity for all variables |   |
|                                | OD_4D_coef      |  |   |
|                                | ASYM_coef       |  |   |
|                                | SPEED_coef      |  |   |
|                                | LATENCY_coef    |  |   |

The growth kinetics were assessed by measurement of the optical density (OD) using the spectrophotometer Tecan (Infinite M200 pro) set at  $\lambda=630$  nm with measurements conducted daily for 7 days. Briefly, 96-well plates were inoculated with 10<sup>4</sup> spores/mL in 200  $\mu$ L per replicate for 11 replicates per genotypes and per conditions. Plates were sealed with Breath-easy® sealing membrane (Sigma-Aldrich). Then we calculated multiple traits as the Area Under the kinetic growth Curve (AUC) with the R-package Agricolae (V.1.3.5), the optical density at 96h (4 days) of culture (OD\_4D), the optical density maximum of the growth kinetic between day 1 and day 7 (ASYM). In addition, with a linear regression model, we approached the speed growth (SPEED) by fitting with a linear model (LM) on a sliding window over three time points. The max speed among all regressions in one replicate is considered as the speed of growth. We estimated the latency phase (LATENCY) by taking the first point time of the best regression.

The phenotypic plasticity variables were calculated in two different ways (Valladares et al., 2006). First, we computed the slope of the norm of reaction for each individual and replicate between two environmental conditions for all variables. Second, we calculated the coefficient of plasticity (coef). It was calculated as the relative variation of treated condition (T) compared to the control (C): ((Control-Treated)/Control). To distinguish plasticity traits from trait per se, all acronyms for norm of reaction plasticity contain the lowercase letter “p” and all acronyms for the second index contain the lowercase word “coef”. Thus, phenotypic plasticity variables could only be computed when the traits values were measurable and non-null in both conditions.

### Statistical and graphical analyses

All statistical analyses and graphical representations were produced with the R software (v4.0.3). For each trait, descriptive statistics (mean, standard deviation, and coefficient of variation (CV) were computed. To analyze phenotypic plasticity across environments and traits, we normalized the value of the plasticity (coef and p) using the formula:  $(x - \min(x)) / (\max(x) - \min(x))$  with x the mean value between replicates for one genotype in a given condition,  $\min(x)$  and  $\max(x)$  are the minimum and the maximum value for a given trait in a given condition and environment. Variance analyses were conducted on transformed data if required (Boxcox - R-package Forecast (v8.20)). Significance of the genotype, condition and their interaction effect, the proportion of explained variance per factor (eta-square,  $\eta^2$ ), (R-package Rstatix (v0.7.1)), was determined using the following linear models:

$$\text{Model 1: } Y_{ij} = \mu_1 + c_i + g_j + (cg)_{ij} + \varepsilon$$

$$\text{Model 2: } Y_j = \mu_2 + g_j + \varepsilon$$

$$\text{Model 3: } Y_{jk} = \mu_2 + e_k + g_j + (eg)_{kj} + \varepsilon$$

where  $Y_{ijk}$  is the observed value for the  $i$ th condition  $j$ th genotype and  $k$ th environment,  $\mu$  is the mean of phenotypic variables value (Model 1) or the phenotypic plasticity variables normalized value (Models 2 and 3),  $c_i$  the fixed effect of the condition  $i$ ,  $g_j$  the fixed effect of the fungal genotype  $j$ ,  $e_k$  the fixed effect of the environment  $k$  (E1, E2, E3) and  $\varepsilon$  a residual error. Barplots were built with Tidyverse (v1.3.2) according to the partition of the phenotypic variance explained by the model.

Pearson's correlation matrices and Figures were provided using the `cor` function of Stats (R- Package Stats, v4.2.2) and visualized with `corrplot` (v0.92). Principal component analysis was calculated with MissMDA package (v1.18, (Josse & Husson, 2016)) using the regularized iterative PCA algorithm as default parameter to estimate missing values. Then FactoExtra (v1.07) was used to visualize the PCA.

Next, we recovered the rank plasticity of each phenotype in all three environments. We assigned a rank based on the value of phenotypic plasticity coefficient for all traits in all environments using the `rank` function (v4.2.2). Then, we calculated the mean of each environment for all genotypes and the mean by phenotype. Pearson correlations were performed using `corrplot` R- package (v0.92) between traits and environment on the rank value in each environment and phenotype.

#### DNA extraction, whole-genome sequencing, and variant calling

Genomic DNA was extracted from lyophilized mycelium previously grown in Malt (30g/L, Biokar) and glucose (10g, Sigma) liquid medium for 4-5 days. Dry mycelia were ground with a beads braker (Precellys®) then 1mL of lysis buffer is added (100 mM Tris-HCl (pH8.0), 10 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 2% sarkosyl and 150 mM NaCl) and ground a second round. Then 1mL of phenol (pH 8, Sigma) was added and shaken. After centrifugations, the supernatant was recovered and 1 volume of chloroform-isoamyl alcohol was added. After centrifugation, the supernatant was collected and RNAse (0.05µg/µL), during 30min at 37°C (ThermoScientific) then proteinase K (0.05 µg/µL, during 1h at 55°C) (Euromedex) was added successively. Next, one volume of phenol-chlorophorm-isoamyl alcohol (50:49:1, Fisher) and finally one volume of chlorophorm-isoamyl alcohol (24:1, Acros Organics) was successively

added to purify the DNA. Nucleic acids were precipitated with ammonium acetate (3M) and cold ethanol absolute (100%), washed in 1 volume of 80% ethanol then 70% ethanol by centrifugation. The pellets were dissolved in 50 $\mu$ L in purified molecular biology grade water. DNA concentration was measured using a fluorometer (Denovix) and controlled by electrophoresis on agarose gel.

DNA extracts were sent to the Genome Transcriptome Facility of Bordeaux (<https://pgtb.fr/>) for paired-end Illumina sequencing (NextSeq 2000, 2x150pb). After checking sequencing quality with FastQC (v0.11.9, <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>), we used RattleSNP (v1.1.0, <https://forge.ird.fr/phim/sravel/RattleSNP>, Sébastien Ravel (CIRAD)) workflow to process reads. Briefly, the 10 first and last bases of R1 and the 15 first and last bases of R2 was trimmed with Atropos (Didion et al., 2017) (Python/3.7) implemented in the workflow. We kept high quality read above Q30 with a minimum length of 70 pb. Genomic reads were mapped against the *F. graminearum* reference strain PH1-genome GCA\_900044135.1 assembly (King et al., 2015, 2017) using BWA mem (v0.7.17, (Li, 2013) set with a seed size of 15 nucleotides and duplicate reads were removed with the MarkDuplicates function implemented in Picard Toolkit (picard/2.23.5, <http://broadinstitute.github.io/picard/>). Variant calling was performed for each sample independently with HaplotypeCaller (GVCF, ploidy = 1) implemented in the Genome Analysis Toolkit (v4.2.3.0, GATK, (Auwera & O'Connor, 2020). Then, every sample was merged in a unique VCF, and 1,473,701 SNPs were identified. In order to increase the reliability of the variant's detection (avoiding false positives), we performed another variant calling with VarScan v2.4.3 (Koboldt et al., 2012). We use SAMtools mpileup v1.9 (Danecek et al., 2021) with a minimum quality of 30 then Varscan mpileup2snp with a minimum of coverage of 15, and we obtained 1,354,901. Only common variants in the two vcf files were kept using Bcftools isec v1.15.1 (1,270,846 left variants). Afterward, the VCF file was filtered using GATK VariantFiltration to keep only high-quality SNPs with the following parameters: QD>15.0, FS>60.0, SOR>3.0, QUAL>40, MQ>50, MQRankSum>-8 & MQRankSum<8, ReadPosRankSum>-5 & ReadPosRankSum<5. A second filtration was performed using vcftools (v0.1.16) to retain only SNPs with GQ>30 and DP>10, a minor allele frequency MAF >5% and a number of missing individuals < 10% (MISS = 90%). After filtration, the rDNA region located at the end of the fourth chromosome was automatically excluded and a total of 87,863 SNPs were identified and were used for GWAS.

### Population structure analyses, genome-wide association mapping

The absence of genetic structure on our strains collection has been verified using PCA implemented in the R-package GAPIT3 (Wang & Zhang, 2021). Then using VCF file, Linkage Disequilibrium (LD) was computed with PLINK (v2.0, <https://www.cog-genomics.org/plink/2.0/>) to define LD decay and visualized only the 10 first kilobases with the R software (ggplot2 v3.4.0).

Genomic association was performed on all traits. We used a Bayesian-information and Linkage-disequilibrium Iteratively Nested Keyway (BLINK) model, available in the R-package GAPIT3, that accounts for the sample's genetic structure and the kinship between isolates, to perform the GWAS. The kinship matrix and the PCA were computed directly by the model with 'kinship.algorithm = "VanRaden", PCA.total=2' for parameters. In order to reduce the false positives rate in each GWAS, we applied the Bonferroni-Holm correction with an alpha threshold of 0.05 (Dubitzky et al., 2013). QQ-plots and Manhattan plots were generated in R (using the R-package CMplot v.4.2.0 (Yin et al., 2021)).

### Candidate genes prediction

Loci identified by GWAS were analyzed for their functional role. We used SnpEff (v4.3.1t, (Cingolani et al., 2012)) to annotate all SNPs of the VCF file. Then we use vcftools (v0.1.16) and SnpSift (v4.3.1t, (Cingolani et al., 2012)) extractFields to extract annotation, reference and alternative alleles for SNPs found significant by GWAS.

## Results

### Phenotypic diversity among *F. graminearum* strains

The phenotypic performances of the 103 *F. graminearum* strains used in this study, for the 10 measured traits in the 3 different environments, were presented on Figure 1 and summarized in Table S2. First, we observed a phenotypic variability among the 103 genotypes for all the traits measured, whatever the environment. For each environment, for most of the traits, we observed an overall decrease in the phenotypic values in the treated conditions compared to the control ones, as illustrated by the difference in mean values (Figure 1, Table S2). For example, TCTB production decreased in mean ( $\pm$ sd) in E1 (from C:  $563.2\pm 415.25$   $\mu\text{g/mL}$  to T:  $294.32\pm 280.18$   $\mu\text{g/mL}$ ) and E3 (from C:  $611.48\pm 428.22$   $\text{mg/mL}$  to T:  $158.09\pm 199.98$   $\mu\text{g/mL}$ ). Only E2 showed increase of TCTB production (from C:  $542.55\pm 370.81$   $\mu\text{g/mL}$  to T:  $626.46\pm 448.6$   $\mu\text{g/mL}$ ). The spread of the phenotypic values estimated through the coefficient of variation was found highly variable between traits and conditions, but overall, the dispersion of the values was found greater in the treated condition compared to the control in all environments. As an example, in E1 for toxins phenotype the dispersion for the control condition ranged from 0.33 to 0.86 with a median of 0.73 whereas it ranged from 0.34 to 1.06 with a median to 0.95 in the treated condition.

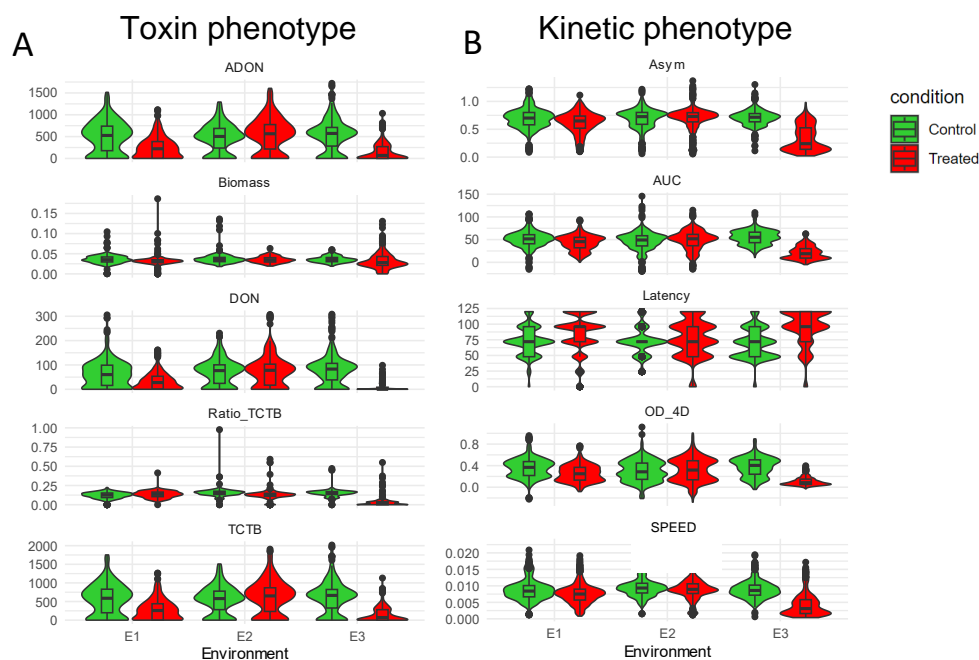


Figure 1: Violin plot with boxplot inside showing the full distribution of the data for each trait by condition for each environment (E1: Temperature, E2: Oxidative, E3: Hydric) for (A) toxin phenotype and (B) kinetic phenotypes.

We also observed different level of correlations between environment and/or conditions but no peculiar pattern could be drawn (Figure S1). For example, TCTB and AUC are not significantly correlated for control conditions in all environments ( $\rho_{E1\_C}=0.1/p=0.39$ ,  $\rho_{E2\_C}=0.18/p=0.12$ ,  $\rho_{E3\_C}=-0.16/p=0.26$ ). But for treated condition, for the same environment and trait, we observed significant negative correlation ( $\rho_{E1\_T}=-0.32/p=0.0056$ ,  $\rho_{E2\_T}=-0.29/p=0.019$ ,  $\rho_{E3\_T}=-0.51/p=1.3E-4$ ). PCA on all phenotypes showed a percentage of explained variance of 58.1% for the principal components 1 and 2 (Figure S2 A and B). Based on the loading plot per environment we noticed a negative correlation between the Latency variable and the other variables of kinetics phenotypes, and weakly correlated with toxins variable (Figure S2C), whatever the condition (C or T).

However, we noticed that some strains didn't grow or didn't produce any mycotoxins in the treated condition as observed on the violin plot in Figure 1. For example, the strain FU12193 didn't produce any mycotoxins in all environments but produced biomass (between 30 to 50 mg in control condition and between 20 to 40 mg in treated condition for the three environments) to contrast with FU12204's strain which didn't produce neither biomass nor toxins in E3 stress condition.

Analysis of variance (Model 1) revealed a significant effect ( $p<0.05$ ) of the genotype (G) on the phenotypic variability, for all traits in all environments. The part of phenotypic variance explained by the G effect in E1 ranged from 0.55 to 0.92. The same range was also observed in E2 from 0.56 to 0.94 (Figure 2, Table S4). Only hydric-stress related environments displayed lower values of phenotypic variances explained by the genotype ranging from 0.23 to 0.67. A significant effect ( $p<0.05$ ) of the Condition (C) was also highlighted for all variables except for the DON ( $p=0.25$ ) and ASYM ( $p=0.34$ ) in E2 (Figure 1, Table S4). The value of the phenotypic variance explained by C ranged from 0.02 to 0.2 for E1, from 0.0001 to 0.03 for E2 and from 0.04 to 0.57 for E3 (Figure 2, Table S4). For all traits measured, a significant ( $p<0.05$ ) GxC interaction effect was shown, in the three environments. The phenotypic variance explained by GxC ranged from 0.04 to 0.28 for E1, from 0.03 to 0.33 for E2 and 0.08 to 0.39 for E3 (Figure 2A, Table S4).



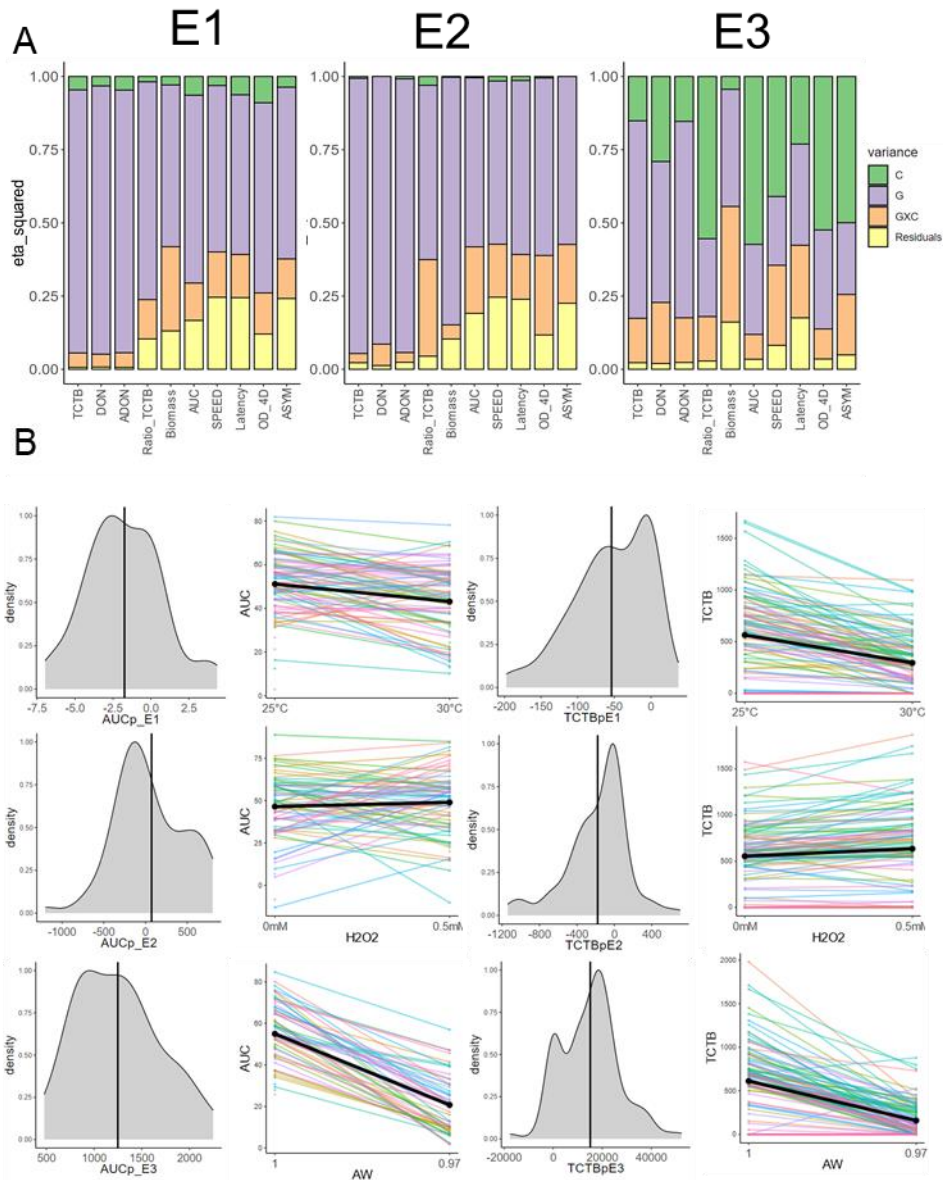


Figure 2: (A) Proportion of variance ( $\eta^2$  eta-squared) explained by each component of the phenotypic variance: Condition (Control or treated), Genotype, their interaction CxG, and residuals, for each trait in each Environment (E; E1: temperature, E2: oxidative and E3: hydric). (B) Densities distributions and norms of reaction (NR) of AUCp (left) and TCTBp (right) in 3 environments. In the NR, each line represents one genotype. The black line is the mean value over all genotypes for NR and densities distributions. Other plastic traits could be found in supplementary file.

### Relative contribution of Condition, Genotype and Environment to phenotypic plasticity.

To understand how wide the phenotypic plasticity was in our population, we examined the distribution of the variables related to plasticity (Figure 2). Regarding the number of traits and environments, we have chosen to show only results for the same variable as before. The mean

( $\pm$ sd) for TCTB plasticity was in E1 -53.78 ( $\pm$ 51.71), in E2 -177.48 ( $\pm$ 327.36) and in E3 15113.09 ( $\pm$ 11,964.07) for the norms of reaction. Concerning AUC plasticity, the mean ( $\pm$ sd) was in E1 -1.76 ( $\pm$ 2.49), in E2 94.94 ( $\pm$ 413.95) and in E3 1262.41 ( $\pm$ 439.6) for the norms of reaction (Table S3, Figure 2B).

Reflecting the dispersion of the population's value, the CV of all 3 environments was variable according to the trait and the environment. For toxins phenotype, the CV has the highest value in E2 than in E1 and E3 for ADON (1.72 vs 0.95 and 0.82 respectively). For biomass, this is E3 which has the highest CV value with 6.7 compared with 2.86 for E1 and 2.71 for E2. (Table S3). Concerning kinetics phenotype, E2 was the environment where the CV was always high (Table S3). On the norms of reaction (Figure 2B, Figure S3) we noticed changes in shape of the slope where it is negative for E1 and E3, it became positive for E2, for both TCTBp and AUCp phenotypes. Densities as those for DO4p and DONp showed bimodal values distribution (Figure S3).

We then decomposed phenotypic plasticity to show how environment and genotype are involved in the variability of phenotypic plasticity. The normalized value of the norm of reaction allowed us to compare the variability of phenotypic plasticity between all traits and all three environments (Figure 3 and Figure S4). We observed differences in mean of the slope between traits and environment for each phenotype (kinetics or toxins). For example, concerning phenotypic plasticity for AUC, we noticed positive mean slopes in E1 and E3 (slopeE1=0.102, slopeE3=0.149) but negative for E2 (slopeE2=-0.046) (Figure 3A). For TCTB production, slopes are positive for E1 and E2 (slopeE1=0.164 and slopeE2=0.032) and negative for E3 (slopeE3=-0.129) (Figure 3B). Values and direction of phenotypic plasticity of trait such as Latency, ASYM, biomass or TCTB seems more conserved between E1 and E3 than with E2.

To go further in the analysis of the implication of the genotype's factor on the phenotypic plasticity we conducted another variance analysis (Model 2). Results showed significant ( $p < 0.05$ ) various slopes for genotypes within and between each environment (Figure 2B and Figure S1) except for biomassp\_E2 where the variance analysis was not significant ( $p = 0.55$ ). The model 2 confirmed the effect of the genotype of the phenotypic plasticity (Table S5). As each trait showed different proportions of phenotypic plasticity variance explained by G, so it could indicate that phenotypic plasticity depends on the trait observed for a particular genotype in a specific environment.

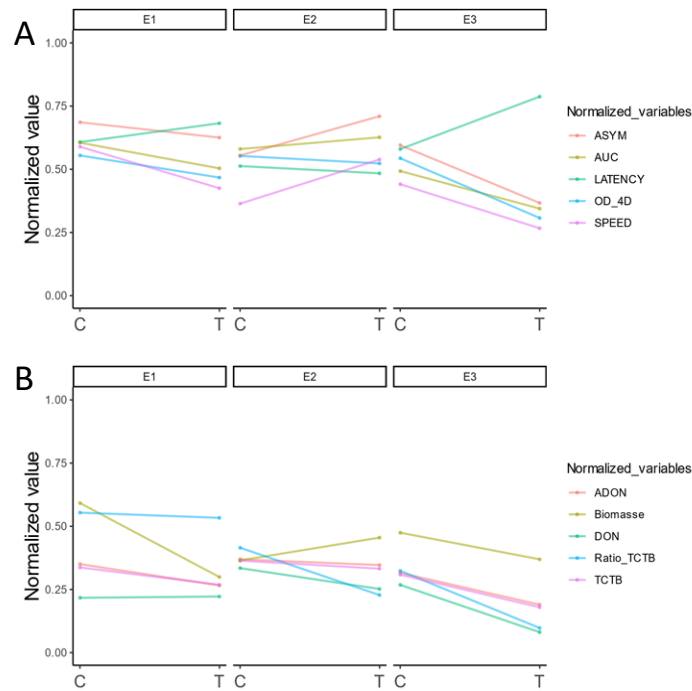


Figure 3: Mean normalized norms of reactions across strains for all traits in each environment. (A) kinetics phenotype and (B) toxins phenotype. C and T refers to Control condition and Treated condition respectively.

The phenotypic plasticity value was used with the third ANOVA model. We observed differences in the value of the coefficient according to the environment (Figure 4). The variance component analyses of the Model 3 revealed that the Environment factor (E) was found significant ( $p < 0.05$ ) for all the plasticity coefficient (Table S6). The proportion of the phenotypic plasticity variance explained by E ranged from 0.05 to 0.35 with a median to 0.16 for kinetics phenotype and from 0.11 to 0.79 with a median to 0.16 for toxins phenotype (Table S6). Independently of the environment considered, the phenotypic plasticity variance was also partly explained by the Genotype effect G ( $p < 0.05$ ). The proportion of variance explained by G ranged from 0.01 to 0.68 with a median to 0.33 for kinetics phenotype and from 0.01 to 0.67 with a median to 0.46 for toxins phenotype (Figure 4, Table S6). Finally, to determine whether environment and genotype jointly influence phenotypic plasticity, we analyzed the interaction Gx E. All variables excepted Biomass\_coef ( $p = 0.30$ ) showed significant interaction ( $p < 0.05$ ). Here, the proportion of variance explained for Gx E ranged from 0.05 to 0.49 with a median to 0.24 for toxins phenotype and ranged from 0.10 to 0.34 with a median to 0.24 for kinetics phenotype (Figure 4, Table S6).

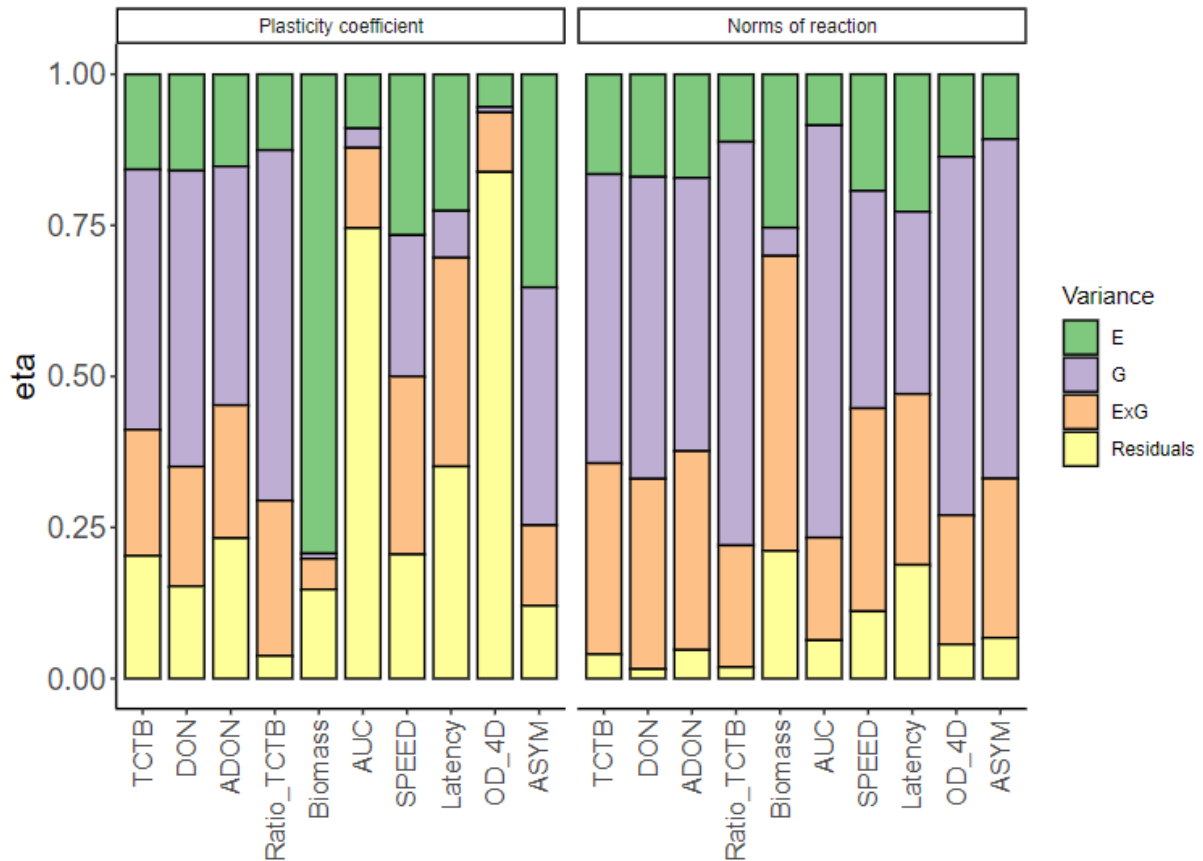


Figure 4: Proportion of variance ( $\eta^2$ ) explained each component of the phenotypic variance: Environment (E; E1: temperature, E2: oxidative and E3: hydric), Genotype (G), all interactions between factors ExG; and residuals. Variables are normalized phenotypic plasticity parameters, coefficient on left and norms of reaction on right.

To study the behavior of the strains across phenotypes and environments, we ranked genotypes according to their plasticity coefficient values. By this way we expected to highlight whether some genotypes were more plastic than others (Figure 5). In a given environment, strains exhibited various phenotypic plasticity levels. FU18001 displayed the highest level of phenotypic plasticity for toxins production in E1 and the lowest level of phenotypic plasticity in E2 but not for kinetics phenotypes, for which FU21040 was the highest ranked genotype. Otherwise, different strains are observed whatever the phenotype and the level of phenotypic plasticity.

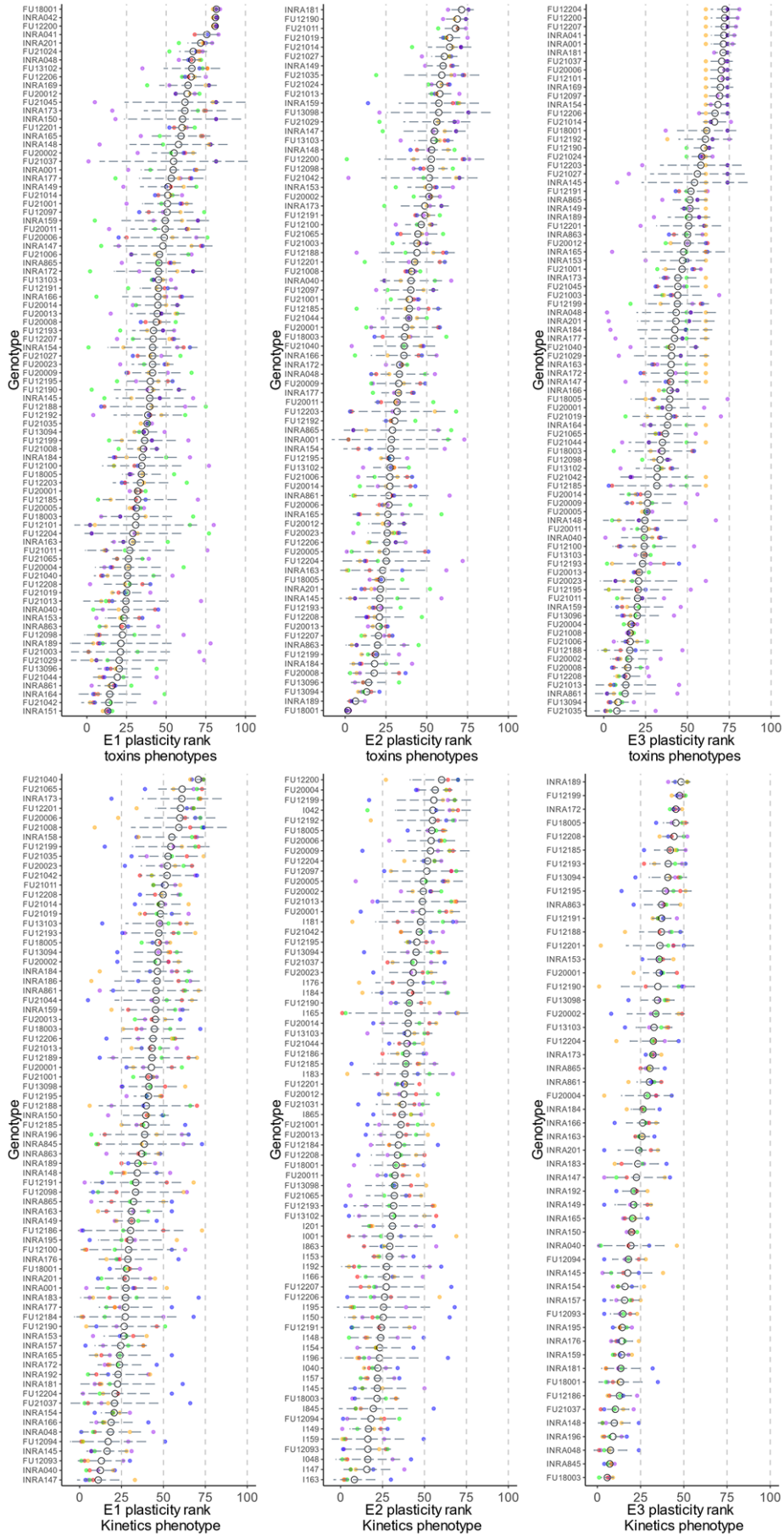


Figure 5: Ranking of genotypes according to the mean rank of genotypes for phenotypic plasticity variables calculated for toxin phenotype (Purple: Biomass, Red: TCTB, Green: Ratio, Blue: ADON, Orange: DON) and kinetic phenotype (Violet: SPEED, Red: AUC, Green: ASYM, Blue: Latency, Orange: OD\_4D). Ranks were estimated by means of at least 3 values. A highest rank means a highest phenotypic plasticity level.

---

To explore the variability of phenotypic plasticity across environmental gradients and across all traits for each genotype, we conduct Spearman correlation based on the rank (Figure S5). Correlations between environments for toxins phenotypes are weakly correlated ( $\rho_{E1-E2}=0.04$ ,  $\rho_{E1-E3}=0.33$ ,  $\rho_{E2-E3}=0.01$ ) and only significant between E1-E3 environments ( $p=0.003$ ). We observed for kinetics phenotype ( $p<0.001$ ) significant correlation between environments ( $\rho_{E1-E2}=0.45$ ,  $\rho_{E1-E3}=0.46$ ,  $\rho_{E2-E3}=0.50$ ,  $p<0.001$ ). However, the correlation between phenotypes within each environment showed negative but non-significant correlations ( $\rho_{T-E1, K-E1}=-0.17$ ,  $\rho_{T-E2, K-E2}=-0.07$ ,  $\rho_{T-E3, K-E3}=-0.26$ ).

#### GWAS of the phenotypic plasticity related traits

To unravel the genetic architecture of phenotypic plasticity, we performed a GWAS for all the traits studied. No genetic structure in our sample was clearly identified by PCA according to host plant, year, or localization of strain isolation (Figure S6 A-B). The distance corresponding to a LD decay of 50 % was estimated around 1 kb for the whole genome. Such a rapid LD decay allow us to accurately identify SNPs associated with the traits studied (Figure S6 C).

In total, 46 SNPs were significantly associated with at least one phenotypic trait (details in table S7), with 6 SNPs associated with traits assessed in E1, 37 SNPs in E2 and 3 SNPs in E3. One SNP HG970334\_1583977 was associated with both Ratiop in E2 and the ratio\_TCTB in treated condition in E2. Since we aimed to characterize the genetic basis of phenotypic plasticity, we now focused only on SNPs related to phenotypic plasticity traits. Out of the 46 significant SNPs, 34 were associated with phenotypic plasticity variables (Biomassp, DONp, Ratiop, ADON\_coef, AUC\_coef, Ratio\_coef, TCTB\_coef and Biomass\_coef). Thirteen SNPs were found in upstream genes, 2 in the 5'UTR of known protein-coding genes. Among SNPs found in the coding part of the gene, 8 were annotated as synonymous variants and 11 as missense variants. Here we presented SNPs that retained our attention based on a  $MAF>10\%$  and on

PVE>10%. Based on those criteria, only 8 SNPs remained: they were all related to toxins plasticity phenotype in E2; 3 were synonymous variants, 2 were missense variants, 1 was in a 5'UTR region and 2 were in upstream region (Table 2).

Table 2: List of SNPs significantly associated with plasticity related traits. CHROM refers to the name of the chromosome on the pHI reference genome V GCA\_900044135.1 (King et al. 2015), POS is the position of the SNP on the chromosome, REF is the reference allele, ALT is the alternative allele, n is the number of individuals genotyped, Allele 1 and Allele 2 are the frequency of the each allele, effect is the substitution allelic effect on the phenotype value, PVE% is the percentage of phenotypic variation explained, SNP annotation is the allelic substitution effect according to SNPEff analysis, Gene ID are the name of the gene model, Product Description is the description of the gene product according to pHI genome annotation VGCA\_900044135.1 release in 2021-03-16 (King et al. 2017).

| Environment | CHROM        | POS  | P.value    | Trait         | REF | ALT | n   | Allele 1 | Allele 2 | effect  | PVE%  | SNP annotation        | Gene ID            | Product Description             |
|-------------|--------------|------|------------|---------------|-----|-----|-----|----------|----------|---------|-------|-----------------------|--------------------|---------------------------------|
| E2          | HG970<br>332 | 4209 | 2.7721E-10 | biomasse_coef | G   | A   | 100 | 0.38     | 0.62     | -0.06   | 36.93 | missense variant      | FGRAMPH1_01G00343  | ankyrin repeat protein          |
|             |              | 4222 | 1.818E-26  | biomassep     | A   | C   | 98  | 0.1      | 0.9      | -0.02   | 42.27 | missense variant      | FGRAMPH1_01G00343  | ankyrin repeat protein          |
|             |              | 6080 | 1.8603E-09 | ADON_coef     | C   | T   | 101 | 0.13     | 0.87     | -0.37   | 49.22 | synonymous variant    | FGRAMPH1_01G09291  | mfs sp sugar:h+ symporter       |
|             |              | 6092 | 3.6747E-08 |               | T   | C   | 99  | 0.14     | 0.86     | -2.52   | 49.43 | upstream gene variant | FGRAMPH1_01G09293* | acetoacetate decarboxylase      |
|             | HG970<br>333 | 4474 | 4.584E-17  |               | C   | T   | 101 | 0.13     | 0.87     | 95.39   | 48.23 | synonymous variant    | FGRAMPH1_01G12279  | integral membrane protein       |
|             |              | 4493 | 4.4368E-09 |               | C   | T   | 102 | 0.12     | 0.88     | -186.97 | 13.82 | synonymous variant    | FGRAMPH1_01G12299  | integral membrane protein PTH11 |
|             |              | 4495 | 5.242E-11  | DONp          | G   | A   | 102 | 0.13     | 0.87     | 198     | 22.93 | 5 prime UTR           | FGRAMPH1_01G12301  | Lipase partial                  |
|             |              | 7156 | 1.5697E-14 | biomassep     | G   | C   | 100 | 0.13     | 0.87     | 0.01    | 12.36 | upstream gene variant | FGRAMPH1_01G21673  | SET domain-containing protein 5 |

\*Genes near the SNP, potentially impacted by the SNP

Two nearby SNPs (HG970332\_420903, HG970332\_422223) were significantly ( $p=2.7E-10$  and  $p=1.8E-26$  respectively) associated respectively with the two biomass-related plasticity traits Biomass<sub>sp</sub> and Biomass<sub>coef</sub> (Figure 6A). Those two SNPs had a MAF > 10% and PVE of 42.27% and 36.93% respectively. Both SNPs are missense variants with an isoleucine to leucine and valine to methionine amino acids modification respectively and were located in the same gene (FGRAMPH1\_01G00343) which codes an ankyrin repeat protein (Table 2). The LD heatmap (Figure 6A.1) showed that both SNPs were located in a region with low but significant LD ( $r^2=0.2$ ,  $p=2.5E-16$ ). Considering those 2 SNPs, we analyzed the haplotype of the FGRAMPH1\_01G00343 gene which showed only 3 haplotypes related to whether the reference (namely: 0) or alternative (namely: 1) allele were present (0\_0, 0\_1 and 1\_1). Haplotype including both alternative allele in the ankyrin repeat protein gene led to significant differences (ANOVA,  $p<0.05$ ) of the biomass related plasticity value.

We detected 2 synonymous SNPs (HG970333\_4493717 and HG970333\_4474302) significantly associated ( $p=4.4E-09$  and  $p=4.6E-17$  respectively) with the DON plasticity norm of reaction. Those two SNPs with MAF of 12% and 13%, explained 13.82% and 48.23% of the phenotypic variance, respectively. Both SNPs are found in genes coding for an integral membrane (FGRAMPH1\_01G12279 and FGRAMPH1\_01G12299) related gene of which FGRAMPH1\_01G12299 are part of the integral membrane PTH11 family. The last DON<sub>p</sub>-related associated SNP found was HG970333\_4495151 ( $p=5.2E-11$ ), with MAF of 13% and explained 22.90% of the phenotypic variance. The SNP was found inside of the Lipase-partial 5'UTR gene (FGRAMPH1\_01G12301). For those cases, the LD heatmap (Figure 6A.2) showed that all 3 SNPs are located in a region with high and significant LD with  $r^2$  values ranging from 0.91 and 1 ( $p<1.1E-14$ ). We analyzed the haplotype considering those 3 SNPs which showed 3 haplotypes related to either the reference (0) or alternative (1) allele which was 0\_0\_0, 1\_0\_1 and 1\_1\_1. We significantly observed a difference in the of the biomass related plasticity value (ANOVA,  $p<0.05$ ) for the considered region (Figure 6C).

Lastly, we observed 2 upstream gene variants related to biomass<sub>sp</sub> (HG970334\_7156876) and ADON<sub>coef</sub> (HG970333\_609201) significantly associated ( $p=1.6E-14$  and  $p=3.7E-08$ ). Those two SNPs with MAF of 13% and 14%, explained 12.36% and 49.43% of the phenotypic variance, respectively. Both SNPs are found in intergenic region but had an impact in an upstream region of the SET5 domain-containing protein gene (FGRAMPH1\_01G21673) and the Acetoacetate decarboxylase (FGRAMPH1\_01G09293) according to the SnpEff software.



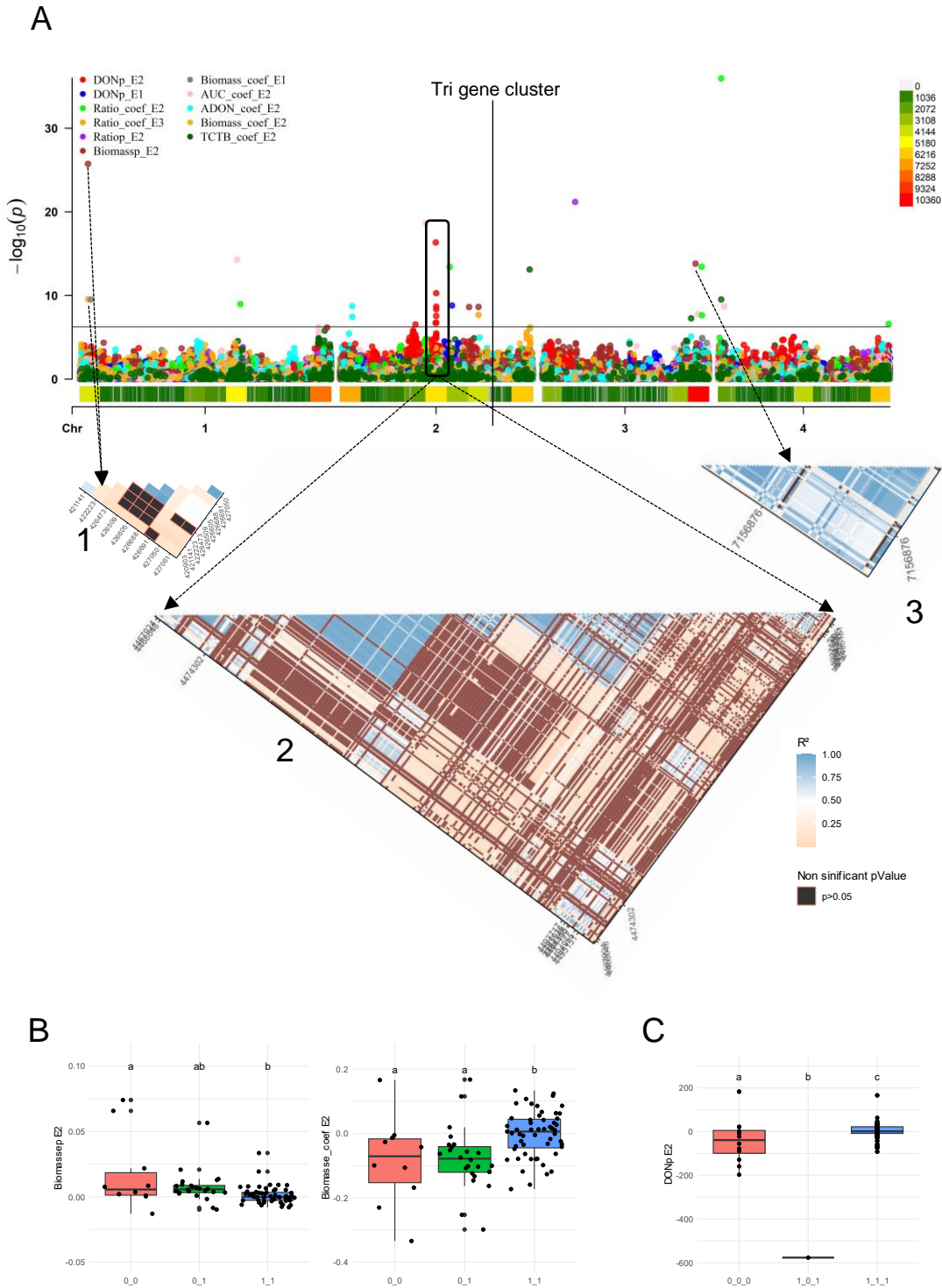


Figure 6: (A) Manhattan plot of associated SNP for the all-phenotypic plasticity related trait. The line represents the Bonferroni pvalue correction. On the x axis, SNP density are represented. Below, 2 linkage disequilibrium plots of 2 regions with associated SNP with +/-5000pb for the 1st Ldmap, +/-1000pb for the 2nd and 3rd Ldmap from the associated SNPs. (B) Boxplots of the SNPs for the biomasse plastic trait in E2 with the two SNP alleles. Upper letter shows significant group (ANOVA,  $\alpha=0.05$ ,  $F=77.2$ ,  $p\text{Value}=2.5e-20$ ,  $n=89$ ). (C) Boxplots of the substitution effect of the SNPs alleles for the DON plastic trait in E2 (ANOVA,  $\alpha=0.05$ ,  $F=79.4$ ,  $p\text{Value}=1.6e-20$ ,  $n=99$ ). For all three boxplots, the y axis represents the mean value of phenotypic plasticity for all genotypes and the x axis represents the haplotype version found in the population (0 refers to reference allele and 1 refers to the alternative allele for a given SNP).

## Discussion

The aim of the study was to investigate the possible impact of the phenotypic plasticity on the adaptive potential of the fungal pathogen *F. graminearum*, unsuspected to date. We characterized the phenotypic plasticity of a collection of strains faced with three environmental constraints (elevated temperature, oxidative exposure and water availability). The phenotypic diversity within such a large French metapopulation for mycotoxin production and growth kinetics, which are important traits related to *F. graminearum* pathogenicity, has not been documented until now. In the present study, we observed variations in plastic responses when comparing genotypes, traits, and environments, suggesting that phenotypic plasticity is a complex mechanism related to genetic factors. Thus, we used quantitative genetics to identify candidate genes putatively controlling plastic traits and we provided a first insight into the genetic architecture of phenotypic plasticity in *F. graminearum*.

The phenotypic plasticity observed is modulated by environment and shows specificities between traits and genotypes.

Our results indicate that the phenotypic diversity is mainly related to genetic (G) differences between the strains. The phenotypic differences observed between the controlled and treated environments suggest that the expression of traits is also strongly influenced by the specific environmental conditions (C). The interaction between genotype and environmental condition (CxG) were found to be significant for all traits studied. The large phenotypic explained variance of CxG for each environment reflected the diversity of phenotypic responses of strains to different environmental conditions. A high value of the CxG interaction indicates that the strains showed in our conditions significantly different phenotypic responses between the controlled and treated environments, while a lower value indicates relatively similar responses between the two conditions. Thus, this diversity of phenotypic responses in different environments highlights the extent of the phenotypic plasticity in *F. graminearum* suggesting a high level of adaptability (Fierst, 2011).

To better characterize and understand how genotypic and environmental factors shaped the phenotypic plasticity, various aspects were examined. Different environmental gradients were evaluated for their impact on specific traits. The plasticity of one given trait expressed by the different genotypes displayed its own distinct plastic response pattern in different environments, indicating a trait-specific relationship with environmental factors which has been already demonstrated in some other organisms (Liu et al., 2015; Morel-Journel et al., 2020).

This result was also supported by the lack of significant correlation between the rank of plasticity in kinetics and toxins phenotype.

Rank correlation between environments for kinetics phenotype suggested that the phenotypic plastic response seemed conserved for each genotype across all three studied environments whereas the phenotypic plastic response for toxins phenotype seemed only conserved between E1 and E3. But it remained unclear how plastic traits could interact with each other to benefit fitness in the overall organism development (Nielsen & Papaj, 2022). Also, we noticed that, in our conditions, there is no trade-off between TCTB and Biomass production in E1 and E3 based on the non-significant correlation and based on the weak but significant positive correlation in E2. Osmotic and temperature stress related to environment have a similar influence on the regulation of mycotoxin biosynthesis genes that could explained the correlation for E1 and E3 for toxins phenotype (Schmidt-Heydt et al., 2008).

Our results suggested that each strain exhibited a unique response to environmental gradients and highlighted that some genotypes exhibit more plastics phenotypes than others. In an extreme environment, a fungal strain could be classified as a specialist if its fitness (or the value of a trait) is maintained or enhanced in that particular environment but decreased in another environment. Generalist strains, on the other hand, are highly adaptable and can typically tolerate a wider range of physicochemical parameters than specialist strains (Gostinčar et al., 2022). For example, strain FU18001 seemed to be specialized for phenotypic plasticity in E1 but not for E2. In contrast, FU12204 strain showed a similar phenotypic plasticity rank between the three environments and both phenotypes. We may assume that this strain is able to produce toxins or able to grow in various environments. However, further investigations of strain fitness under various abiotic conditions are needed to gain into a deeper understanding.

#### The phenotypic plasticity in *F. graminearum* is a potential driver of adaptation

Phenotypic plasticity may play a key role in the survival and competitiveness of the fungus in fluctuating habitats since individuals showing phenotypic plasticity may have an advantage in variable environments, allowing them to adapt quickly and efficiently to new conditions (Auld et al., 2010; Gibert et al., 2019). Strains that show higher phenotypic plasticity, in particular for growth, may have a greater ability to colonize new ecological niches all along their life cycle, which could contribute to their success in varied abiotic conditions. These results open up new perspectives for better understanding the mechanisms underlying phenotypic plasticity in *F. graminearum* and for studying its involvement in the complex interactions between this

pathogen and its host, in particular wheat. Notably, we demonstrated a large phenotypic variation in the mycotoxin production together with the ability to modulate this production according to fluctuating environment. As the DON mycotoxin is known to act as a virulence factor during wheat infection and likely to be involved in different phases of the fungal life cycle (Audenaert et al., 2013) the phenotypic plasticity observed for its production may play a significant role in the infection's success and further epidemiological outcomes. Also observed in other mycotoxin-producing fungi, as *Aspergillus flavus*, alterations in the external environment implying osmotic or oxidative stress are sensed and transmitted at the transcriptional level, resulting in modifications in phenotype (Geisen et al., 2017). It was already known that several environmental factors such as reactive oxygen species but also pH, nutrient sources, or light, may triggered toxin production in *F. graminearum* through complex regulation network of trichothecene biosynthesis pathway (Merhej et al., 2011; Ponts, 2015). Our results suggested that such regulations are genotype-dependent and that the genetic diversity at the population level should not be neglected when considering mycotoxin issues.

Evidence for phenotypic plasticity in other filamentous fungi has already been demonstrated as *B. cinerea* in biotic conditions. Majority of the traits observed were controlled by a mixture of environment, genotype, and their interaction. But it was not possible to clearly identify the molecular mechanism such as gene that influence phenotypic plasticity (Corwin et al., 2016). An analysis of variance was made also for *Saccharomyces cerevisiae* between glucose and ethanol culture conditions for 109 segregants where the Strain–Condition Interaction was accounting for 9% of the phenotypic variation (Smith & Kruglyak, 2008). We also brought evidence for variation in phenotypic plasticity in different isolates of the same species which support our hypothesis on genetic determinism of phenotypic plasticity. Little evidence was brought for past adaptation to different micro-climate when observations of phenotypic plasticity of same species soil-isolated (Alster et al., 2021). Overall, our results on *F. graminearum* phenotypic plasticity confirmed those previously obtained but not further explored on a limited set of strains (Hay et al., 2021; Ramirez et al., 2006). A previous study, which included 119 strains of *F. graminearum*, demonstrated a genotype-by-environment interaction for aggressiveness on wheat assessed across diverse climatic conditions (Talas et al., 2016). This finding suggests that the species shows also phenotypic plasticity regarding in planta traits However, it also raises the question of the phenotypic plasticity of host-plant interaction, as the GxE effect may also be due to the plant's phenotypic plasticity.

### A complex genetic basis governs phenotypic plasticity in *F. graminearum*

Our analysis of genotypic differences in phenotypic plasticity at the metapopulation level of *F. graminearum* revealed significant implications of genotype on plasticity. We determined that certain genotypes exhibit a more adaptable phenotypic response, whatever the traits or environments studied. Genetic correlations between traits in different environments may suggest common mechanisms involved in plasticity, while negative correlations imply trade-offs or antagonist pathways. Unprecedented in fungi, our study reveals the complex genetic model underlying phenotypic plasticity expression (Des Marais et al., 2013; Falconer, 1952). The complexity of the gene regulation between environments, based on the correlation coefficient, suggested a mixture of specific and non-specific genes that be part of the genetic control to phenotypic response.

In order to decipher the genetic architecture of the phenotypic plasticity to connect environmental sensing and responding pathway, we conducted a genome wide association study. We have found 34 SNPs associated with 8 plasticity related traits mainly in oxidative environment and several of them retained our attention. Two SNPs associated with biomass plasticity related traits were found in a gene (FGRAMPH1\_01G00343) encoding an ankyrin repeat protein. No linkage disequilibrium was found between these two SNPs here which suggested that each variant seems independent. No phenotypic difference was observed between the two variants when considered independently but we noticed a significant difference for the biomass plasticity value for strains accumulating the two mutations, which suggests an additive effect of these two SNPs. Ankyrin repeat protein are known to mediate protein-protein interactions, some of which are involved in regulation biological processes and in stabilization of protein networks (Mosavi et al., 2004). Notably, FGRAMPH1\_01G00343 is homologous to *S. cerevisiae* Akr1 involved in the pheromone response pathway (Kao et al., 1996). It has been demonstrated that an ankyrin-repeat domain protein is required for early molecular events of host-mediated nitric oxide production and virulence in *F. graminearum* (Ding et al., 2020).

Two SNPs associated with DONp were found in the integral membrane PTH11 gene (FGRAMPH1\_01G12299). This gene is involved in pathogenesis and upstream effector of appressorium differentiation, already described in *Magnaporthe oryzae*, the rice blast fungus (DeZwaan et al., 1999). PTH11p is an important G-protein-coupled-receptor (GPCR) containing an extracellular domain required for sensing the environment leading to proper development of appressorium formation. Also, authors demonstrated that PTH11p possessed multiple and different function among different strains: activator or repressor of appressorium

differentiation related to phenotypic plasticity of PTH11p function. An RNA-seq study on *F. graminearum* during three host plants infection (wheat, maize, barley) showed that genes belonging to PTH11 gene family were differentially expressed with 9 genes preferentially expressed in wheat and 5 on barley (Harris et al., 2016). Another variant associated with DONp was found in a 5'UTR lipase-partial gene (FGRAMPH1\_01G12301). This gene is part of the ortholog group OG6\_105033 gathering carboxylic ester hydrolases enzymes. Previous studies have shown the indispensable roles of fungal lipases, acting for the cellular lipid accumulation and degradation during the sexual reproduction stages (Bravo-Ruiz et al., 2013; Kim et al., 2023; Reis et al., 2005). Also, based on FungiDB we found functional redundancy as we also found 5 orthologs of the lipase partial gene in *F. graminearum* (FGRAMPH1\_01T04863, FGRAMPH1\_01T11845, FGRAMPH1\_01T12051, FGRAMPH1\_01T13219, FGRAMPH1\_01T19111). Literature mentioned one *F. graminearum* lipase, *fgl1*, even if deletion mutant strains revealed remaining lipolytic activity in supernatants of culture, showed decrease of infection on wheat spikes (Voigt et al., 2005).

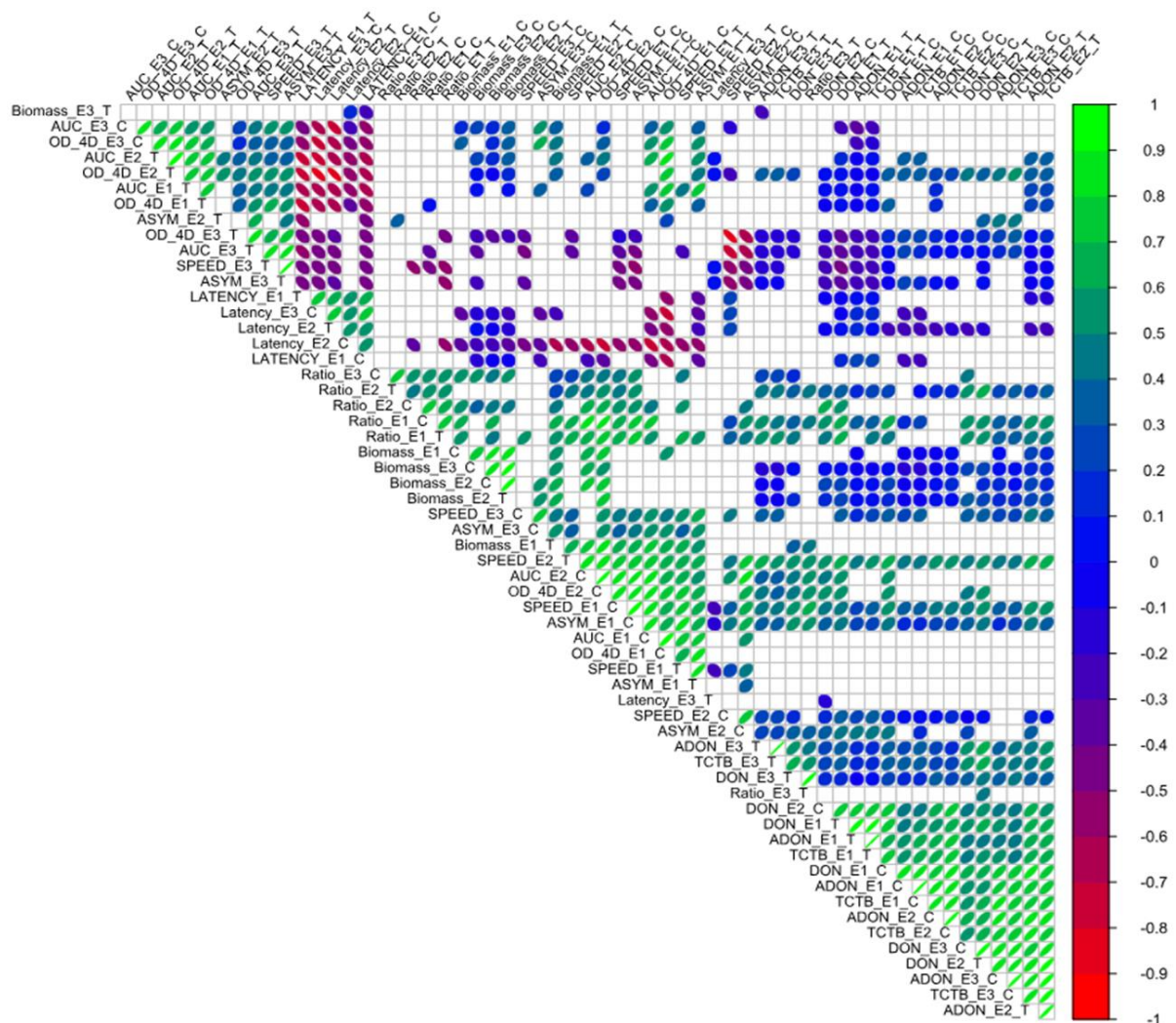
High linkage disequilibrium was observed between the three DONp-related SNPs despite the physical distance between the loci, and a significant phenotypic difference was measured between the multilocus haplotypes. This result suggests that an epistatic model may be involved, but more haplotypes should be considered to confirm this hypothesis. To remember, the epistatic model suggests that plastic responses are caused by the regulation of the mean phenotype gene by genes that integrate environmental inputs. Such a hypothesis has been already investigated in various models including plants (e.g. Huang et al., 2023), *Drosophila* (e.g. Van Heerwaarden & Sgrò, 2017), or in yeast (e.g. Peltier et al., 2018) confirming the importance of epistatic genes in the intricate genetic architecture of the phenotypic plasticity traits. Overall, all the genes identified by our GWAS approach are likely to be involved in fungal sensing and signaling response to the environment. The involvement of such pathways echoes those already identified in the literature in response to cold tolerance, osmotic stress, root growth and oil yield in plants (Des Marais et al., 2013; Mangin et al., 2017). One other hypothesis is that those genes are hub genes, that is to say, they are associated together in a genetic network to influence overall phenotypic plasticity in order to buffering environmental variations (Laitinen & Nikoloski, 2019). The concept of Hub genes has been explored in *S. cerevisiae* to explore buffering phenotypic variation (Levy & Siegal, 2008). However, the GWAS method proves to be less effective in characterizing complex traits that involve numerous genes with small effect (Heitman et al., 2017; Tam et al., 2019). In fungi, it has been

hypothesized that phenotypic plasticity may be due to a mechanism of metabolic reprogramming involving many genes and regulators (Pellon et al., 2022). Therefore, our approach, based on a limited number of strains, was not enough powerful to detect such processes.

Furthermore, the GWAS approach only enabled us to decipher the genetic aspect of the phenotypic plasticity neglecting possible epigenetic effects. It has already been reported that phenotypic plasticity can be under epigenetic control. Chromatin modifications as well as DNA methylations have been shown to be part of the phenotypic plasticity of *Candida albicans*, promoting adaptation inside the host (Rai et al., 2018). Single or multiple gene deletions related to epigenetic markers could go deeper in understanding of the importance of epigenetic basis on the phenotypic plasticity, as shown in *Neurospora crassa* (Kronholm et al., 2016).

In conclusion, this work provides a starting point to explore phenotypic plasticity as adaptive potential. We have demonstrated that phenotypic plasticity was under partially genetic control and hypothesized that the genetic determinism model of complex traits as phenotypic plasticity trait underlying epistatic interactions. In the light of anthropogenic-mediated climate change (Medina et al., 2017), this study highlights the importance of considering the phenotypic plasticity of fungi in short-term adaptation processes, as some strains appear to be better able to adapt to a given environment due to their plasticity. However, the host remains the closest environment for plant pathogens, and in planta experiments should be conducted to estimate the importance of phenotypic plasticity in *F. graminearum* as adaptive potential in an agronomical context. Last but not least, more in depth studies, bringing clues about in planta interactions, could include studies on other species or on the microbiota community involved in the Fusarium Head Blight (Karlsson et al., 2021).

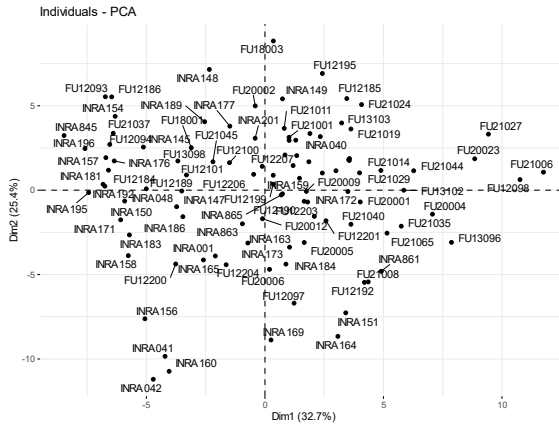
## Supplemental Figures:



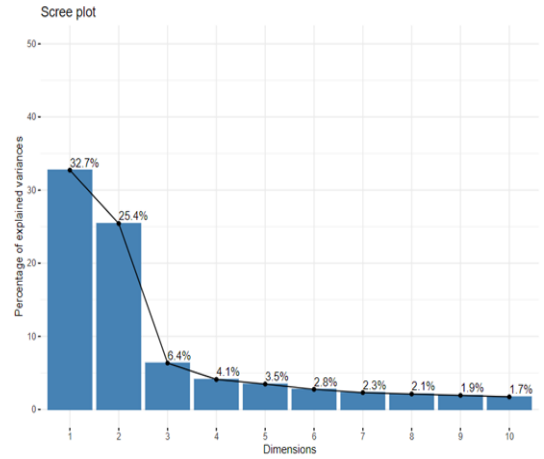
Supplementary Figure 1: Correlation map between all traits in all Environment (E1 : Temperature, E2 : Oxidative, E3 : Hydric) and condition (C: control, T: treated). Only significant correlations are shown ( $p < 0.05$ ) and ellipse show the strength of the correlation.



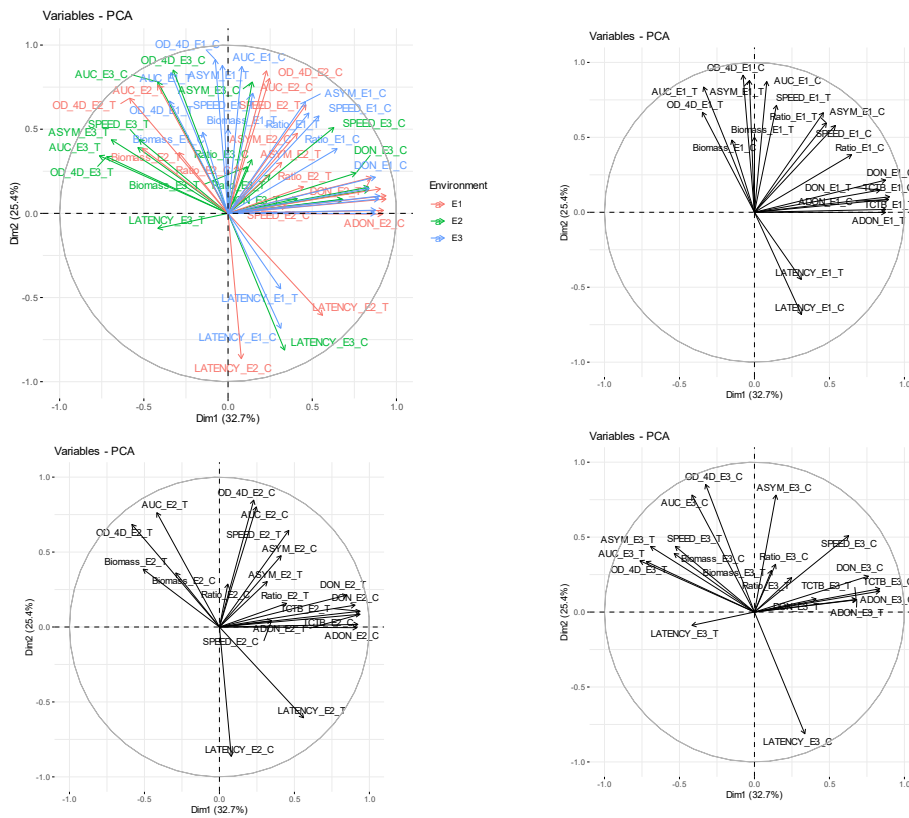
A



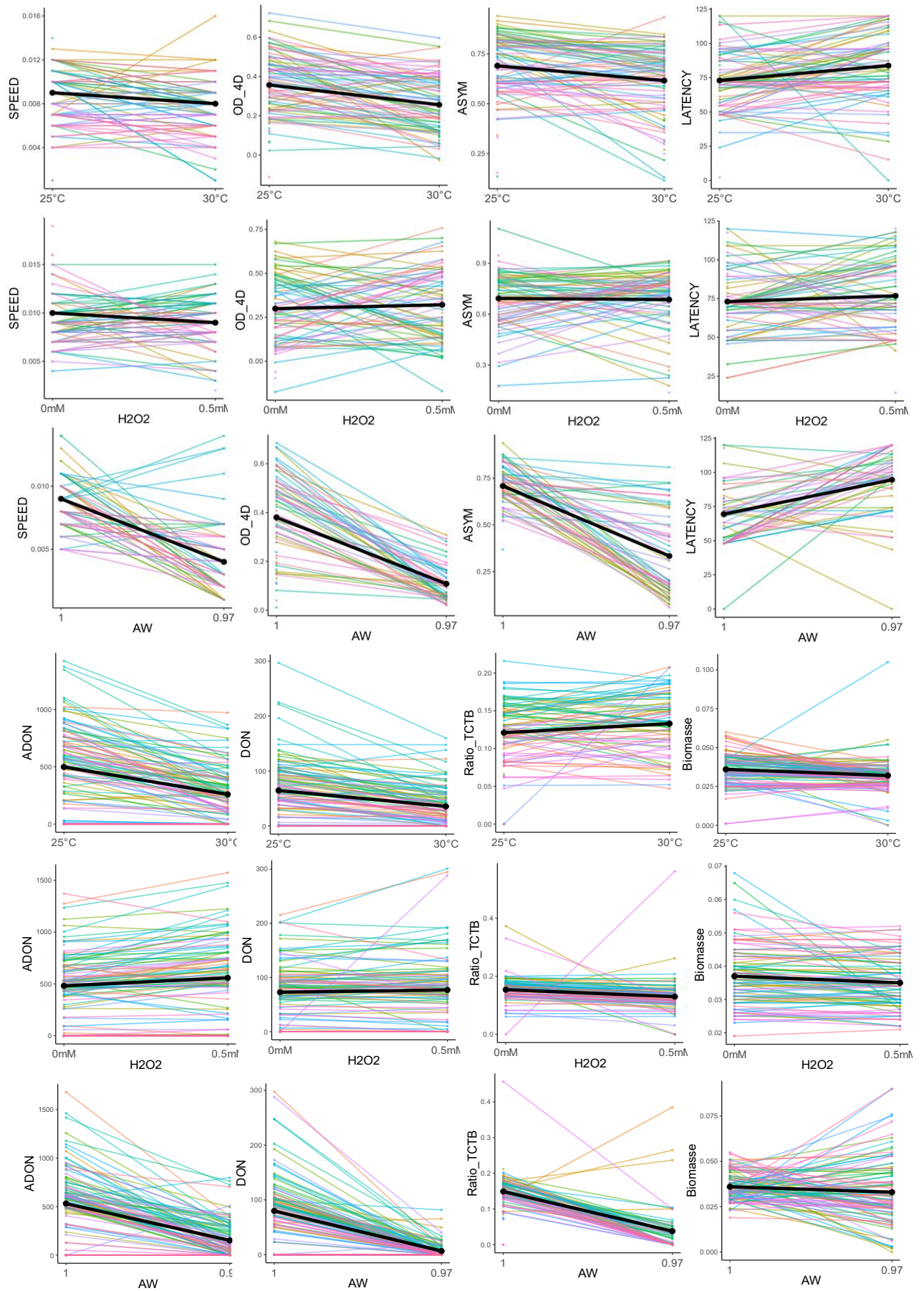
B



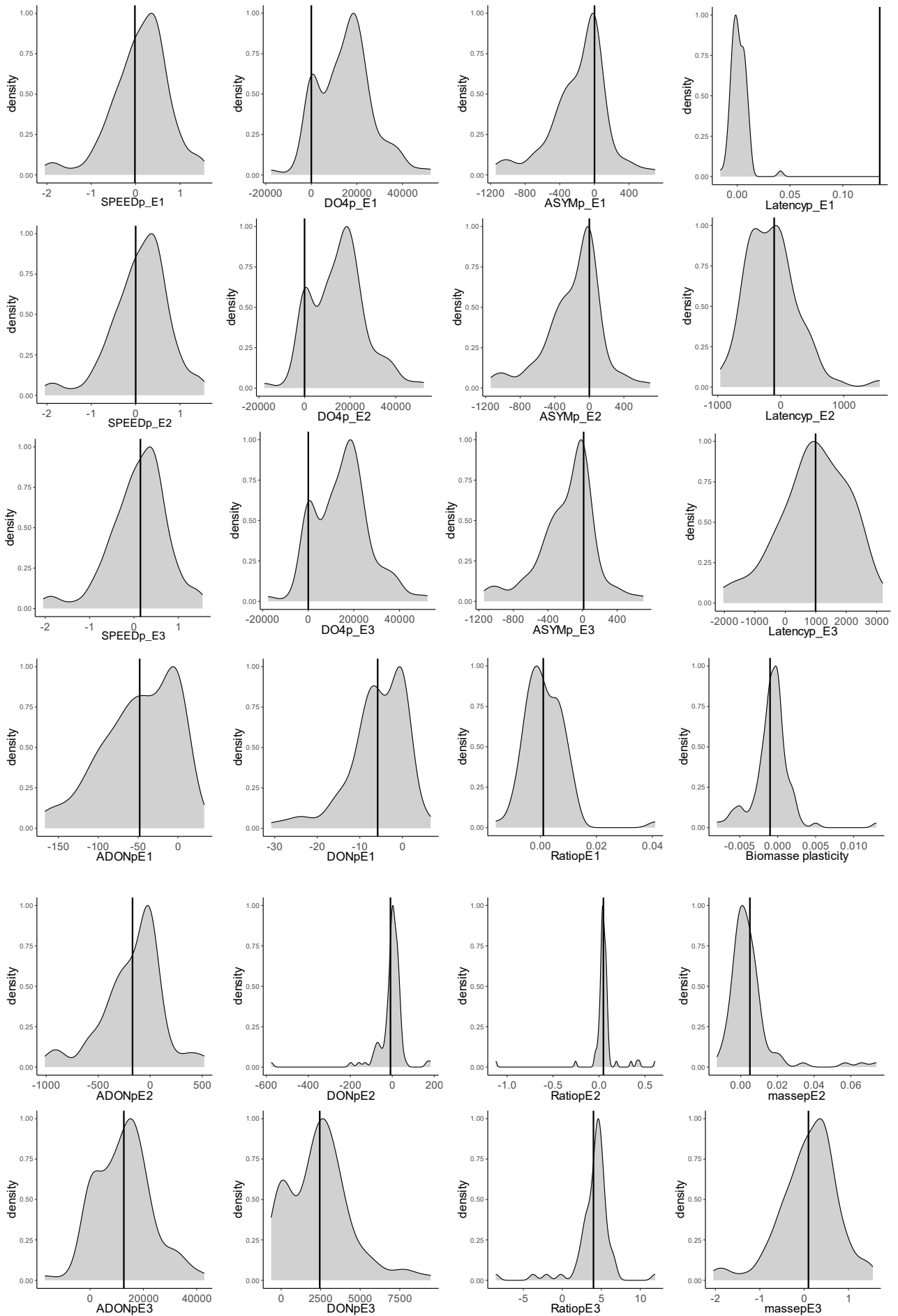
C

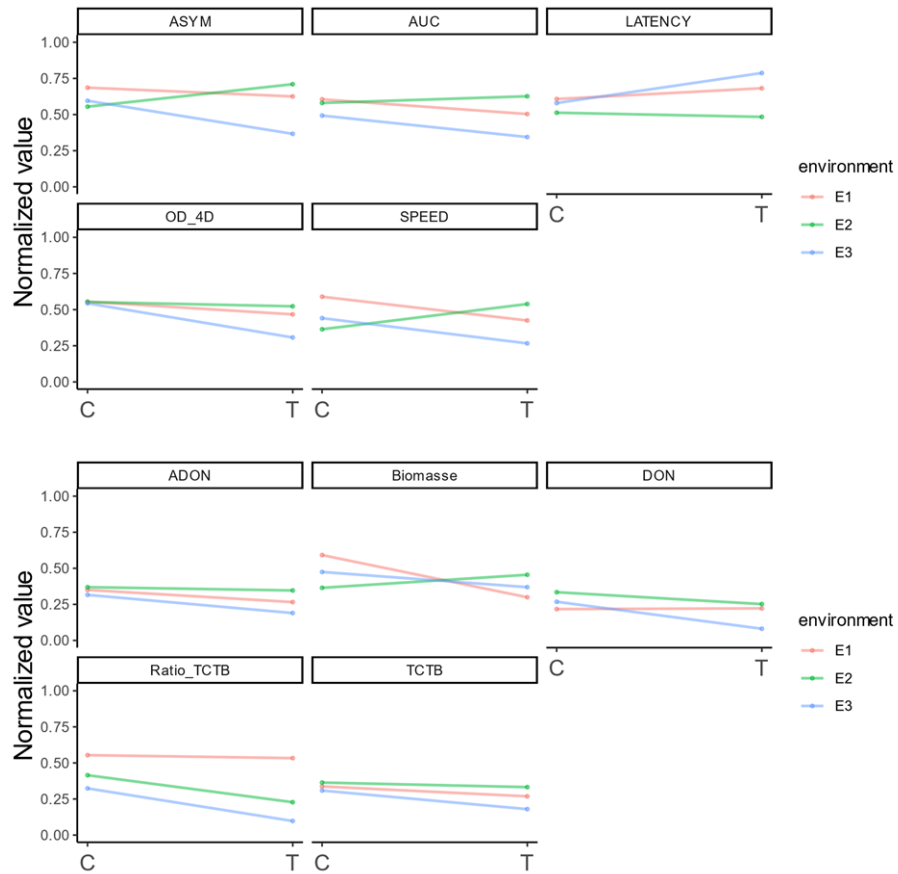


Supplementary Figure 2: (A) PCA showing individuals and (B) scree plot showing percentage of explained variance per principal component. (C) PCA showing loading plots of variables for each Environment (E1: Temperature, E2: Oxidative, E3: Hydic)

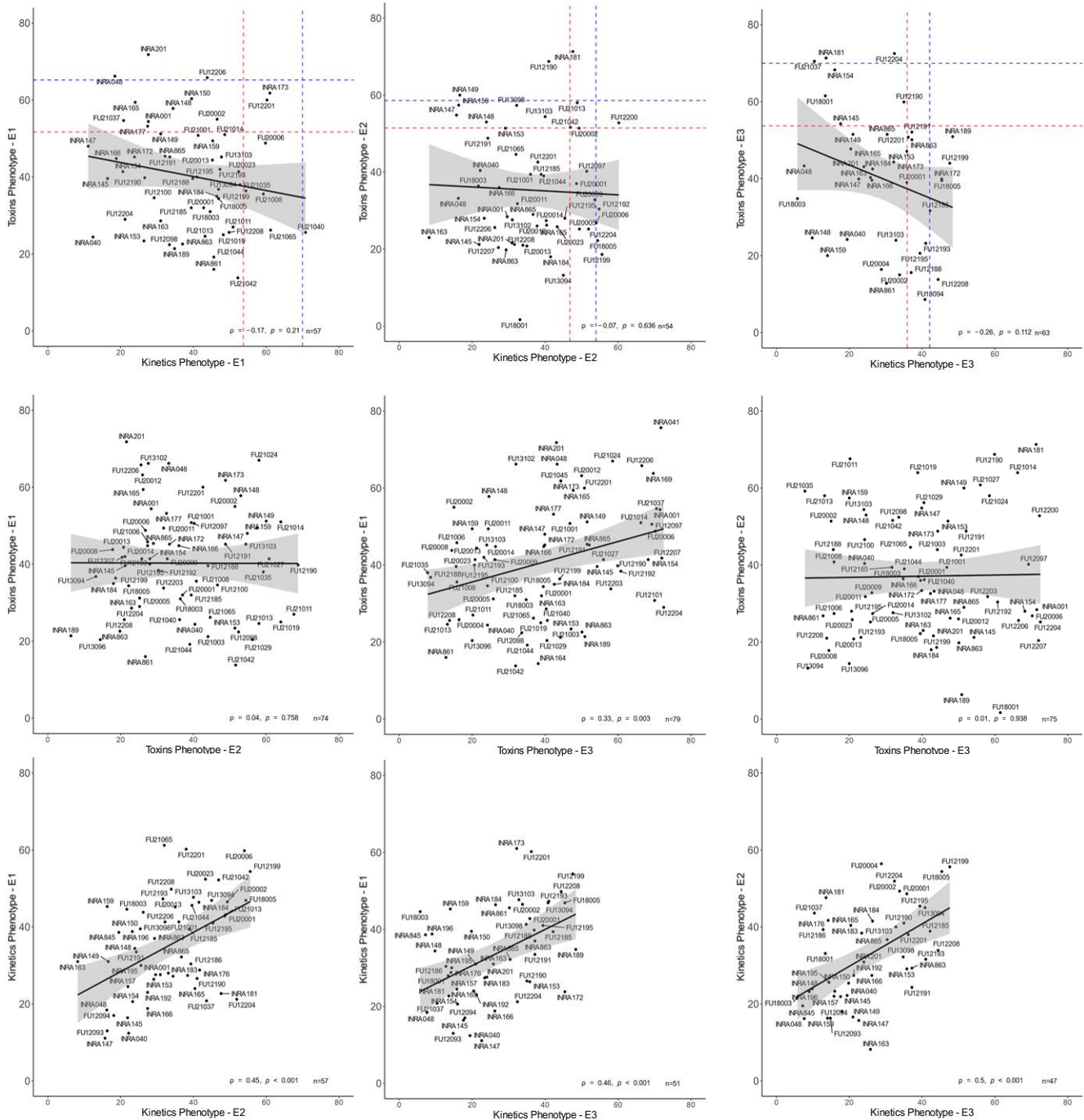


Supplementary Figure 3: Norms of reaction for all traits and density distributions



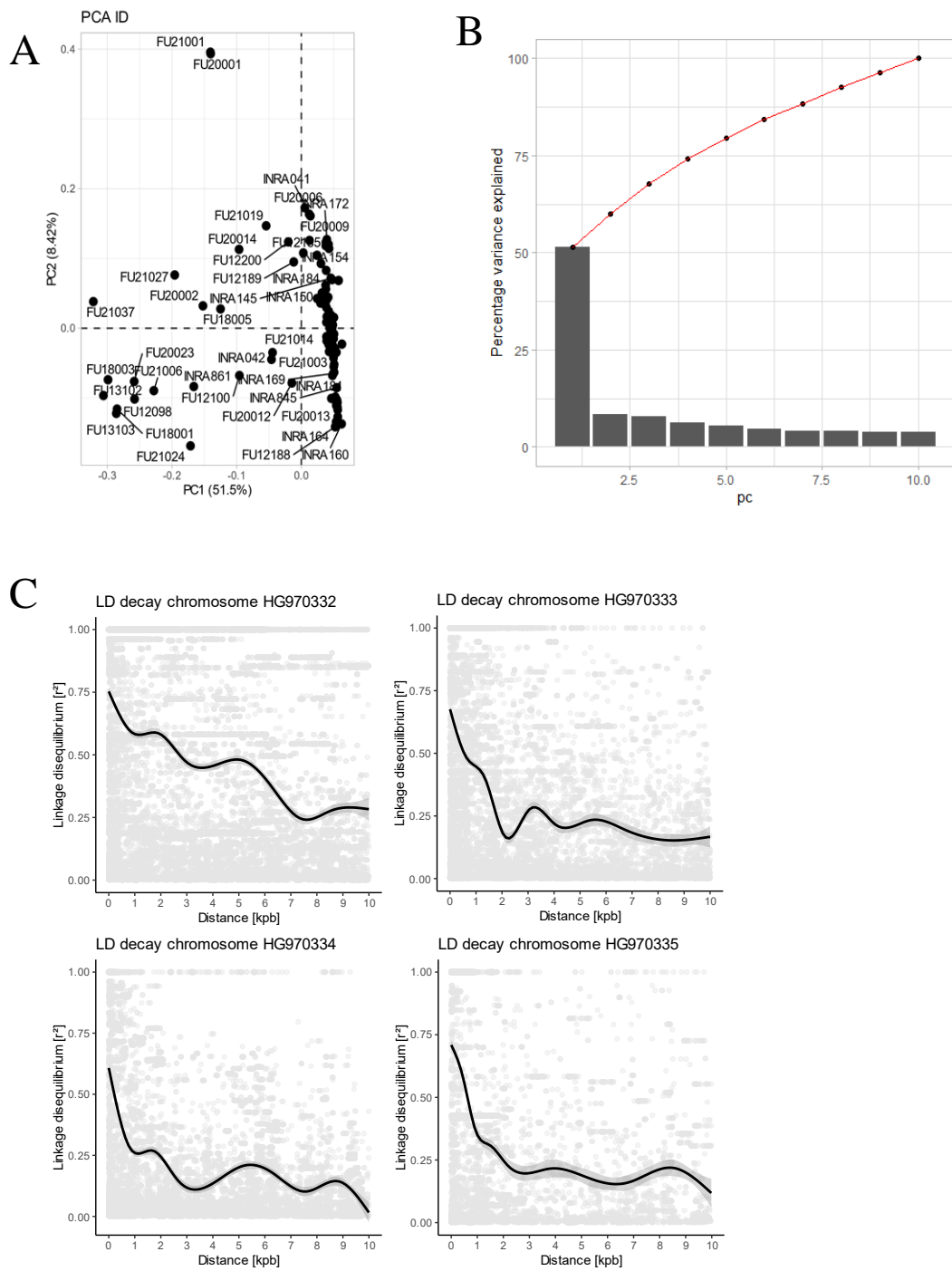


Supplementary Figure 4: Mean normalized mean norms of reactions across strains for all environment in each considered trait. (A) kinetics phenotype and (B) toxins phenotype. C refers to control condition and T to treated condition.



|                    |    | Quantile_10 | Quantile_25 | Quantile_50 | Quantile_75 | Quantile_90 | Mean  | SD    |
|--------------------|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|-------|
| Toxins phenotype   | E1 | 21.70       | 28.90       | 41.40       | 51.7        | 65.20       | 42.20 | 16.67 |
|                    | E2 | 20.10       | 25.75       | 34.70       | 51.45       | 58.60       | 37.36 | 15.97 |
|                    | E3 | 15.80       | 24.25       | 40.40       | 53.71       | 69.96       | 41.02 | 18.81 |
| Kinetics phenotype | E1 | 20.66       | 27.40       | 39.10       | 46.80       | 53.92       | 37.5  | 13.45 |
|                    | E2 | 19.22       | 25.60       | 35          | 45          | 53.68       | 35.48 | 12.41 |
|                    | E3 | 10.64       | 15.55       | 26          | 35.90       | 42.08       | 26.32 | 12.08 |

Supplementary Figure 5: Person rank correlation of the phenotypic plasticity level. Red and blue dot line represent the 75th and 90th quantile respectively. Grey ribbon are the confidence intervalle (CI) to 95%.



Supplementary Figure 6: (A) PCA on SNPs ( $n=87863$ ) according individuals. (B) Biplot explaining the percentage of explained variance of each PC. (C) Mean LD decay for each chromosome on the first 10kbp.

Supplementary Table 1: Fungal strains collection where the genotype refers to Name of the *Fusarium graminearum* genotype in the collection, the collection refers to name of the collection where the strain come from, the host refers to the plant where the strains was isolated, the variety refers to the plant host variety, the origin was the country where the strain are isolated follow by the number of the department if know and the year refers to when the isolate were sampled.

| Genotype | Collection | Host        | Variety   | Origin    | Year | Genotype | Collection | Host        | Variety        | Origin    | Year |
|----------|------------|-------------|-----------|-----------|------|----------|------------|-------------|----------------|-----------|------|
| INRA001  | INRAE      | Wheat       | NA        | Belgium   | NA   | FU12101  | Arvalis    | Triticale   | Triskell       | France-12 | 2012 |
| INRA040  | INRAE      | Soft wheat  | Trémie    | France-32 | 1997 | FU12184  | Arvalis    | Soft wheat  | Royssac        | France-77 | 2012 |
| INRA041  | INRAE      | Soft wheat  | Soissons  | France-41 | 1997 | FU12185  | Arvalis    | Soft wheat  | Royssac        | France-77 | 2012 |
| INRA042  | INRAE      | Soft wheat  | Trémie    | France-26 | 1998 | FU12186  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude        | France-77 | 2012 |
| INRA048  | INRAE      | Durum wheat | NA        | France-32 | 1998 | FU12188  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude        | France-77 | 2012 |
| INRA145  | INRAE      | Soft wheat  | Isengrain | France-55 | 2002 | FU12189  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude        | France-59 | 2012 |
| INRA147  | INRAE      | Soft wheat  | Isengrain | France-60 | 2002 | FU12190  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude        | France-77 | 2012 |
| INRA148  | INRAE      | Soft wheat  | Isengrain | France-60 | 2002 | FU12191  | Arvalis    | Soft wheat  | Royssac        | France-59 | 2012 |
| INRA149  | INRAE      | Soft wheat  | Isengrain | France-60 | 2002 | FU12192  | Arvalis    | Soft wheat  | Prémio         | France-77 | 2012 |
| INRA150  | INRAE      | Soft wheat  | Isengrain | France-60 | 2002 | FU12193  | Arvalis    | Soft wheat  | Prémio         | France-77 | 2012 |
| INRA151  | INRAE      | Soft wheat  | Isengrain | France-60 | 2002 | FU12195  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude        | France-77 | 2012 |
| INRA153  | INRAE      | Soft wheat  | Isengrain | France-60 | 2002 | FU12199  | Arvalis    | Soft wheat  | Prémio         | France-77 | 2012 |
| INRA154  | INRAE      | Soft wheat  | Soissons  | France-18 | 2001 | FU12200  | Arvalis    | Soft wheat  | Prémio         | France-77 | 2012 |
| INRA156  | INRAE      | Soft wheat  | Soissons  | France-18 | 2001 | FU12201  | Arvalis    | Soft wheat  | Prémio         | France-77 | 2012 |
| INRA157  | INRAE      | Soft wheat  | Apache    | France-77 | 2002 | FU12203  | Arvalis    | Soft wheat  | Royssac        | France-77 | 2012 |
| INRA158  | INRAE      | Soft wheat  | Soissons  | France-18 | 2001 | FU12204  | Arvalis    | Soft wheat  | Royssac        | France-77 | 2012 |
| INRA159  | INRAE      | Soft wheat  | Soissons  | France-18 | 2001 | FU12206  | Arvalis    | Soft wheat  | Prémio         | France-59 | 2012 |
| INRA160  | INRAE      | Soft wheat  | Soissons  | France-18 | 2001 | FU12207  | Arvalis    | Soft wheat  | Prémio         | France-59 | 2012 |
| INRA163  | INRAE      | Soft wheat  | Isengrain | France-18 | 2001 | FU12208  | Arvalis    | Soft wheat  | Prémio         | France-59 | 2012 |
| INRA164  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-76 | 2002 | FU13094  | Arvalis    | Triticale   | Orval          | France-46 | 2013 |
| INRA165  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-76 | 2002 | FU13096  | Arvalis    | Triticale   | Orval          | France-46 | 2013 |
| INRA166  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-76 | 2002 | FU13098  | Arvalis    | Triticale   | Orval          | France-46 | 2013 |
| INRA169  | INRAE      | Soft wheat  | Soissons  | France-03 | 2001 | FU13102  | Arvalis    | Triticale   | Orval          | France-46 | 2013 |
| INRA171  | INRAE      | Durum wheat | Nefer     | France-32 | 2001 | FU13103  | Arvalis    | Triticale   | Orval          | France-46 | 2013 |
| INRA172  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-27 | 2002 | FU18001  | Arvalis    | Soft wheat  | NA             | France-24 | 2018 |
| INRA173  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-27 | 2002 | FU18003  | Arvalis    | Soft wheat  | NA             | France-24 | 2018 |
| INRA176  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-27 | 2002 | FU18005  | Arvalis    | Soft wheat  | NA             | France-91 | 2018 |
| INRA177  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-27 | 2002 | FU20001  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude        | France-91 | 2020 |
| INRA181  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-28 | 2002 | FU20002  | Arvalis    | Soft wheat  | Apache         | France-67 | 2020 |
| INRA183  | INRAE      | Durum wheat | Nefer     | France-31 | 2001 | FU20004  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude        | France-91 | 2020 |
| INRA184  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-27 | 2002 | FU20005  | Arvalis    | Durum wheat | Rgt volur      | France-31 | 2020 |
| INRA186  | INRAE      | Durum wheat | Nefer     | France-31 | 2001 | FU20006  | Arvalis    | Soft wheat  | Fructidor      | France-62 | 2020 |
| INRA189  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-27 | 2002 | FU20008  | Arvalis    | Soft wheat  | Oregrain       | France-28 | 2020 |
| INRA192  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-27 | 2002 | FU20009  | Arvalis    | Durum wheat | Karur          | France-17 | 2020 |
| INRA195  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-55 | 2002 | FU20011  | Arvalis    | Soft wheat  | Fructidor      | France-76 | 2020 |
| INRA196  | INRAE      | Soft wheat  | Charger   | France-55 | 2002 | FU20012  | Arvalis    | Soft wheat  | Rgt Sacramento | France-37 | 2020 |
| INRA201  | INRAE      | Soft wheat  | Soissons  | France-61 | 2001 | FU20013  | Arvalis    | Soft wheat  | Cellule        | France-89 | 2020 |
| INRA845  | Arvalis    | Wheat       | NA        | France-91 | 2010 | FU20014  | Arvalis    | Soft wheat  | Rgt Sacramento | France-14 | 2020 |
| INRA861  | GDEC       | NA          | NA        | France-63 | 2010 | FU20023  | Arvalis    | Durum wheat | Miradoux       | France-11 | 2020 |
| INRA863  | GDEC       | NA          | NA        | France-63 | 2010 | FU21001  | Arvalis    | Soft wheat  | Fructidor      | France-91 | 2021 |
| INRA865  | GDEC       | NA          | NA        | France-63 | 2010 | FU21003  | Arvalis    | Durum wheat | Nobilis        | France-31 | 2021 |
| FU12093  | Arvalis    | Triticale   | Triskell  | France-12 | 2012 | FU21006  | Arvalis    | Durum wheat | Nobilis        | France-91 | 2021 |
| FU12094  | Arvalis    | Triticale   | Triskell  | France-12 | 2012 | FU21008  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude        | France-91 | 2021 |
| FU12097  | Arvalis    | Triticale   | Triskell  | France-12 | 2012 | FU21011  | Arvalis    | Durum wheat | Nobilis        | France-31 | 2021 |
| FU12098  | Arvalis    | Triticale   | Triskell  | France-12 | 2012 | FU21013  | Arvalis    | Soft wheat  | Rgt Cesario    | France-24 | 2021 |
| FU12100  | Arvalis    | Triticale   | Triskell  | France-12 | 2012 | FU21014  | Arvalis    | Soft wheat  | Rgt Cesario    | France-24 | 2021 |
| FU12101  | Arvalis    | Triticale   | Triskell  | France-12 | 2012 | FU21019  | Arvalis    | Durum wheat | Nobilis        | France-31 | 2021 |
| FU12184  | Arvalis    | Soft wheat  | Royssac   | France-77 | 2012 | FU21024  | Arvalis    | Durum wheat | Nobilis        | France-91 | 2021 |
| FU12185  | Arvalis    | Soft wheat  | Royssac   | France-77 | 2012 | FU21027  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude        | France-91 | 2021 |
| FU12186  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude   | France-77 | 2012 | FU21029  | Arvalis    | Soft wheat  | Goncourt       | France-68 | 2021 |
| FU12188  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude   | France-77 | 2012 | FU21035  | Arvalis    | Durum wheat | Rgt volur      | France-24 | 2021 |
| FU12189  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude   | France-59 | 2012 | FU21037  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude        | France-91 | 2021 |
| FU12190  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude   | France-77 | 2012 | FU21040  | Arvalis    | Durum wheat | Anvergur       | France-17 | 2021 |
| FU12191  | Arvalis    | Soft wheat  | Royssac   | France-59 | 2012 | FU21042  | Arvalis    | Durum wheat | Anvergur       | France-31 | 2021 |
| FU12192  | Arvalis    | Soft wheat  | Prémio    | France-77 | 2012 | FU21044  | Arvalis    | Durum wheat | Anvergur       | France-31 | 2021 |
| FU12193  | Arvalis    | Soft wheat  | Prémio    | France-77 | 2012 | FU21045  | Arvalis    | Durum wheat | Rubisko        | France-77 | 2021 |
| FU12195  | Arvalis    | Soft wheat  | Bermude   | France-77 | 2012 | FU21065  | Arvalis    | Durum wheat | Rgt volur      | France-11 | 2021 |

Supplementary Table 2: Descriptive statistics related to the phenotypic performances of the 103 *F. graminearum* strains used in the present study, for the 10 measured traits in the 3 environments E1, E2 and E3.

| Phenotype | Variable   | Descriptive statistic | Environment   |               |                |               |                |               |
|-----------|------------|-----------------------|---------------|---------------|----------------|---------------|----------------|---------------|
|           |            |                       | E1            |               | E2             |               | E3             |               |
|           |            |                       | C             | T             | C              | T             | C              | T             |
| Kinetics  | ASYM       | mean±sd               | 0.69±0.19     | 0.62±0.19     | 0.69±0.18      | 0.69±0.20     | 0.71±0.13      | 0.33±0.23     |
|           |            | min-max               | 0.14-0.94     | 0.12-0.93     | 0.53-1.1       | 0.18-0.91     | 0.54-0.94      | 0.07-0.72     |
|           |            | CV                    | 0.27          | 0.31          | 0.25           | 0.30          | 0.18           | 0.68          |
|           |            | <i>n</i>              | 49            | 49            | 49             | 44            | 29             | 23            |
|           | AUC        | mean±sd               | 51.17±16.80   | 43.14±16.66   | 46.44±19.73    | 48.97±21.11   | 54.99±15.28    | 20.74±14.10   |
|           |            | min-max               | 2.95-79.95    | 10.25-70.48   | 28.04-88.78    | -94.99        | 25.75-80.08    | 2.17-47.09    |
|           |            | CV                    | 0.33          | 0.39          | 0.42           | 0.43          | 0.28           | 0.68          |
|           |            | <i>n</i>              | 49            | 49            | 49             | 44            | 29             | 23            |
|           | LATENCY    | mean±sd               | 72.96±23.40   | 83.81±30.13   | 73.06±21.93    | 76.78±28.62   | 69.42±24.02    | 94.6±28.12    |
|           |            | min-max               | 48-120        | 0-120         | 24-120         | 41.45-117.82  | 0-120          | 0-120         |
|           |            | CV                    | 0.32          | 0.36          | 0.30           | 0.37          | 0.35           | 0.30          |
|           |            | <i>n</i>              | 49            | 49            | 49             | 44            | 29             | 23            |
|           | OD_4D      | mean±sd               | 0.36±0.18     | 0.26±0.15     | 0.3±0.19       | 0.32±0.22     | 0.38±0.18      | 0.11±0.08     |
|           |            | min-max               | -0.11-0.68    | -0.03-0.55    | 0.08-0.68      | -0.17-0.76    | 0.01-0.66      | 0.02-0.31     |
|           |            | CV                    | 0.49          | 0.59          | 0.65           | 0.68          | 0.47           | 0.71          |
|           |            | <i>n</i>              | 49            | 49            | 49             | 44            | 29             | 23            |
|           | SPEED      | mean±sd               | 8.7E-3±3.2E-3 | 7.5E-3±3E-3   | 9.7E-3±3E-3    | 9.7E-3±3.3E-3 | 8.8E-3±2.6E-3  | 4.3E-3±3.4E-3 |
|           |            | min-max               | 1.4E-3-1.4E-2 | 1.3E-3-1.6E-2 | 6.1E-3-1.47E-2 | 2.6E-3-1.5E-2 | 5.9E-3-1.42E-2 | 6E-4-7.1E-3   |
| CV        |            | 0.37                  | 0.39          | 0.31          | 0.36           | 0.29          | 0.80           |               |
|           | <i>n</i>   | 49                    | 49            | 49            | 44             | 29            | 23             |               |
| Toxin     | ADON       | mean±sd               | 498.7±363.54  | 258.85±244.74 | 470.99±321.21  | 549.85±389.76 | 531.59±370.9   | 151.46±190.4  |
|           |            | min-max               | 0-1423.92     | 0-973.37      | 0-1275.14      | 0-1573.17     | 0-1980.57      | 0-797.81      |
|           |            | CV                    | 0.73          | 0.95          | 0.68           | 0.71          | 0.70           | 1.26          |
|           |            | <i>n</i>              | 103           | 103           | 103            | 103           | 103            | 103           |
|           | Biomass    | mean±sd               | 0.04±0.01     | 0.03±0.01     | 0.04±0.01      | 0.04±0.01     | 0.04±0.01      | 0.03±0.02     |
|           |            | min-max               | 0-0.06        | 0-0.11        | 0.02-0.07      | 0.02-0.05     | 0.02-0.05      | 0-0.09        |
|           |            | CV                    | 0.33          | 0.44          | 0.35           | 0.22          | 0.22           | 0.64          |
|           |            | <i>n</i>              | 103           | 103           | 103            | 103           | 103            | 103           |
|           | DON        | mean±sd               | 64.5±55.71    | 35.47±37.48   | 71.8±53.08     | 76.61±65.68   | 79.89±62.9     | 6.63±13.76    |
|           |            | min-max               | 0.296.82      | 0-159.68      | 0-215.35       | 0-301         | 0-297.8        | 0-81.8        |
|           |            | CV                    | 0.86          | 1.06          | 0.74           | 0.86          | 0.79           | 2.08          |
|           |            | <i>n</i>              | 103           | 103           | 103            | 103           | 103            | 103           |
|           | Ratio_TCTB | mean±sd               | 0.12±0.04     | 0.13±0.04     | 0.16±0.07      | 0.13±0.07     | 0.15±0.05      | 0.04±0.07     |
|           |            | min-max               | 0-0.22        | 0.05-0.21     | 0-0.7          | 0-0.56        | 0-0.46         | 0-0.38        |
|           |            | CV                    | 0.3500        | 0.3400        | 0.4400         | 0.5200        | 0.3400         | 1.8100        |
|           |            | <i>n</i>              | 103           | 103           | 103            | 103           | 103            | 103           |
|           | TCTB       | mean±sd               | 563.2±415.25  | 294.32±280.18 | 542.55±370.81  | 626.46±448.6  |                | 158.09±199.98 |
|           |            | min-max               | 0-1670.12     | 0-1095.47     | 0-1490.49      | 0-1867.98     | 0-1980.57      | 0-879.61      |
| CV        |            | 0.74                  | 0.95          | 0.68          | 0.72           | 0.70          | 1.26           |               |
|           | <i>n</i>   | 103                   | 103           | 103           | 103            | 103           | 103            |               |



Supplementary Table 3: Descriptive statistics for the phenotypic plasticity related variables (coef for coefficient, NR for norms of reaction) in the 103 *F. graminearum* strains used in this study, for the 10 measured traits in the 3 environments E1, E2, E3.

| Phenotype | Variable   | Descriptive statistic | Environment   |               |                |               |                |               |
|-----------|------------|-----------------------|---------------|---------------|----------------|---------------|----------------|---------------|
|           |            |                       | E1            |               | E2             |               | E3             |               |
|           |            |                       | Control       | Treated       | Control        | Treated       | Control        | Treated       |
| Kinetics  | ASYM       | mean±sd               | 0.69±0.19     | 0.62±0.19     | 0.69±0.18      | 0.69±0.20     | 0.71±0.13      | 0.33±0.23     |
|           |            | min-max               | 0.14-0.94     | 0.12-0.93     | 0.53-1.1       | 0.18-0.91     | 0.54-0.94      | 0.07-0.72     |
|           |            | CV                    | 0.27          | 0.31          | 0.25           | 0.30          | 0.18           | 0.68          |
|           |            | n                     | 49            | 49            | 49             | 44            | 29             | 23            |
|           | AUC        | mean±sd               | 51.17±16.80   | 43.14±16.66   | 46.44±19.73    | 48.97±21.11   | 54.99±15.28    | 20.74±14.10   |
|           |            | min-max               | 2.95-79.95    | 10.25-70.48   | 28.04-88.78    | -94.99        | 25.75-80.08    | 2.17-47.09    |
|           |            | CV                    | 0.33          | 0.39          | 0.42           | 0.43          | 0.28           | 0.68          |
|           |            | n                     | 49            | 49            | 49             | 44            | 29             | 23            |
|           | LATENCY    | mean±sd               | 72.96±23.40   | 83.81±30.13   | 73.06±21.93    | 76.78±28.62   | 69.42±24.02    | 94.6±28.12    |
|           |            | min-max               | 48-120        | 0-120         | 24-120         | 41.45-117.82  | 0-120          | 0-120         |
|           |            | CV                    | 0.32          | 0.36          | 0.30           | 0.37          | 0.35           | 0.30          |
|           |            | n                     | 49            | 49            | 49             | 44            | 29             | 23            |
|           | OD_4D      | mean±sd               | 0.36±0.18     | 0.26±0.15     | 0.3±0.19       | 0.32±0.22     | 0.38±0.18      | 0.11±0.08     |
|           |            | min-max               | -0.11-0.68    | -0.03-0.55    | 0.08-0.68      | -0.17-0.76    | 0.01-0.66      | 0.02-0.31     |
|           |            | CV                    | 0.49          | 0.59          | 0.65           | 0.68          | 0.47           | 0.71          |
|           |            | n                     | 49            | 49            | 49             | 44            | 29             | 23            |
|           | SPEED      | mean±sd               | 8.7E-3±3.2E-3 | 7.5E-3±3E-3   | 9.7E-3±3E-3    | 9.7E-3±3.3E-3 | 8.8E-3±2.6E-3  | 4.3E-3±3.4E-3 |
|           |            | min-max               | 1.4E-3-1.4E-2 | 1.3E-3-1.6E-2 | 6.1E-3-1.47E-2 | 2.6E-3-1.5E-2 | 5.9E-3-1.42E-2 | 6E-4-7.1E-3   |
| CV        |            | 0.37                  | 0.39          | 0.31          | 0.36           | 0.29          | 0.80           |               |
| n         |            | 49                    | 49            | 49            | 44             | 29            | 23             |               |
| Toxin     | ADON       | mean±sd               | 498.7±363.54  | 258.85±244.74 | 470.99±321.21  | 549.85±389.76 | 531.59±370.9   | 151.46±190.4  |
|           |            | min-max               | 0-1423.92     | 0-973.37      | 0-1275.14      | 0-1573.17     | 0-1980.57      | 0-797.81      |
|           |            | CV                    | 0.73          | 0.95          | 0.68           | 0.71          | 0.70           | 1.26          |
|           |            | n                     | 103           | 103           | 103            | 103           | 103            | 103           |
|           | Biomass    | mean±sd               | 0.04±0.01     | 0.03±0.01     | 0.04±0.01      | 0.04±0.01     | 0.04±0.01      | 0.03±0.02     |
|           |            | min-max               | 0-0.06        | 0-0.11        | 0.02-0.07      | 0.02-0.05     | 0.02-0.05      | 0-0.09        |
|           |            | CV                    | 0.33          | 0.44          | 0.35           | 0.22          | 0.22           | 0.64          |
|           |            | n                     | 103           | 103           | 103            | 103           | 103            | 103           |
|           | DON        | mean±sd               | 64.5±55.71    | 35.47±37.48   | 71.8±53.08     | 76.61±65.68   | 79.89±62.9     | 6.63±13.76    |
|           |            | min-max               | 0.296.82      | 0-159.68      | 0-215.35       | 0-301         | 0-297.8        | 0-81.8        |
|           |            | CV                    | 0.86          | 1.06          | 0.74           | 0.86          | 0.79           | 2.08          |
|           |            | n                     | 103           | 103           | 103            | 103           | 103            | 103           |
|           | Ratio_TCTB | mean±sd               | 0.12±0.04     | 0.13±0.04     | 0.16±0.07      | 0.13±0.07     | 0.15±0.05      | 0.04±0.07     |
|           |            | min-max               | 0-0.22        | 0.05-0.21     | 0-0.7          | 0-0.56        | 0-0.46         | 0-0.38        |
|           |            | CV                    | 0.3500        | 0.3400        | 0.4400         | 0.5200        | 0.3400         | 1.8100        |
|           |            | n                     | 103           | 103           | 103            | 103           | 103            | 103           |
|           | TCTB       | mean±sd               | 563.2±415.25  | 294.32±280.18 | 542.55±370.81  | 626.46±448.6  | 611.48±426.93  | 158.09±199.98 |
|           |            | min-max               | 0-1670.12     | 0-1095.47     | 0-1490.49      | 0-1867.98     | 0-1980.57      | 0-879.61      |
| CV        |            | 0.74                  | 0.95          | 0.68          | 0.72           | 0.70          | 1.26           |               |
| n         |            | 103                   | 103           | 103           | 103            | 103           | 103            |               |

Supplementary Table 4: Analysis of Variance for Model 1, with Lambda for the BoxCox coefficient, Df for the degrees of freedom, factors:Genotype, Condition and CxG interaction effects. Shapiro Wilk test pValue and Levene test pvalue of the residues for the normality and homogeneity of variance respectively, the R squared adjusted of the model and the explained variance Eta<sup>2</sup> for all factors and residuals.

| Variable      | lambda | Df-condition | Df-Genotype | Df-CxG | Mean-squared |           |          | Sum-squared |           |          | F value  |           |          | Pr(>F)    |       |           | Shapiro_pval | Levene_pval | R <sup>2</sup> -adjusted | C         | G    | Eta <sup>2</sup> | Residuals |      |      |
|---------------|--------|--------------|-------------|--------|--------------|-----------|----------|-------------|-----------|----------|----------|-----------|----------|-----------|-------|-----------|--------------|-------------|--------------------------|-----------|------|------------------|-----------|------|------|
|               |        |              |             |        | Genotype     | Condition | CxG      | Genotype    | Condition | CxG      | Residual | Condition | CxG      | Condition | CxG   | Genotype  |              |             |                          |           |      |                  |           | CxG  |      |
| DOH_E1        | 0.27   | 1            | 102         | 102    | 4.91E+02     | 1.38E+02  | 6.75E+00 | 2.92E+01    | 4.91E+02  | 1.41E+04 | 6.89E+02 | 1.20E+02  | 1.68E+03 | 4.74E+02  | 23.15 | 1.44E-147 | 0.00E+00     | 4.40E-121   | 3.82E-34                 | 7.91E-134 | 0.99 | 0.03             | 0.92      | 0.04 | 0.01 |
| ADON_E1       | 0.29   | 1            | 102         | 102    | 2.38E+03     | 4.39E+02  | 2.49E+01 | 8.44E+01    | 2.38E+03  | 4.44E+04 | 2.84E+03 | 3.48E+02  | 2.82E+03 | 5.16E+02  | 29.52 | 2.92E-166 | 0.00E+00     | 3.23E-139   | 1.88E-34                 | 7.25E-163 | 0.99 | 0.05             | 0.90      | 0.05 | 0.01 |
| TCTB_E1       | 0.70   | 1            | 102         | 102    | 2.66E+03     | 4.65E+02  | 2.60E+01 | 9.06E+01    | 2.66E+03  | 4.74E+04 | 2.85E+03 | 3.73E+02  | 2.72E+03 | 5.13E+02  | 28.71 | 1.52E-183 | 0.00E+00     | 4.32E-137   | 1.71E-34                 | 1.23E-159 | 0.99 | 0.05             | 0.90      | 0.05 | 0.01 |
| Ratio_TCTB_E1 | 0.42   | 1            | 102         | 102    | 7.07E+02     | 3.45E+02  | 6.66E+03 | 1.26E+03    | 7.07E+02  | 2.90E+04 | 5.92E+01 | 9.06E+01  | 5.10E+01 | 2.75E+01  | 5.46  | 7.98E-14  | 5.84E-107    | 1.04E-27    | 2.84E-37                 | 5.21E-34  | 0.84 | 0.02             | 0.74      | 0.13 | 0.10 |
| Biomass_E1    | 0.50   | 1            | 102         | 102    | 2.01E+01     | 3.74E+02  | 1.95E+02 | 2.24E+03    | 2.01E+01  | 3.82E+02 | 3.02E+03 | 6.27E+01  | 8.96E+01 | 1.67E+01  | 8.73  | 2.72E-19  | 3.59E-98     | 3.00E-58    | 3.57E-36                 | 9.16E-48  | 0.8  | 0.03             | 0.55      | 0.29 | 0.13 |
| DOH_E2        | 0.50   | 1            | 98          | 95     | 2.29E+00     | 4.35E+02  | 3.17E+01 | 1.70E+03    | 2.29E+00  | 4.27E+04 | 3.02E+03 | 6.27E+01  | 1.35E+00 | 2.56E+02  | 8.66  | 2.47E-01  | 3.88E-301    | 5.84E-99    | 6.22E-37                 | 8.51E-98  | 0.98 | 0.00             | 0.91      | 0.07 | 0.01 |
| ADON_E2       | 0.97   | 1            | 98          | 95     | 5.68E+05     | 4.64E+05  | 1.99E+04 | 2.97E+03    | 5.68E+05  | 4.55E+07 | 1.62E+06 | 1.15E+06  | 1.91E+02 | 1.56E+02  | 6.70  | 1.34E-35  | 3.25E-261    | 6.33E-42    | 2.39E-34                 | 7.90E-34  | 0.97 | 0.01             | 0.93      | 0.03 | 0.02 |
| TCTB_E2       | 0.93   | 1            | 98          | 95     | 4.20E+05     | 4.24E+05  | 1.70E+04 | 2.55E+03    | 4.20E+05  | 4.15E+07 | 1.62E+06 | 1.15E+06  | 1.65E+02 | 1.66E+02  | 6.66  | 1.26E-31  | 3.88E-266    | 1.24E-41    | 1.10E-34                 | 2.43E-31  | 0.97 | 0.01             | 0.94      | 0.03 | 0.02 |
| Ratio_TCTB_E2 | 0.25   | 1            | 83          | 75     | 4.37E+00     | 7.47E+01  | 5.42E+01 | 2.11E+02    | 4.37E+00  | 6.20E+01 | 4.07E+01 | 6.93E+00  | 2.08E+02 | 3.55E+01  | 25.77 | 2.14E-36  | 7.77E-97     | 6.77E-97    | 1.17E-39                 | 1.44E-98  | 0.91 | 0.03             | 0.60      | 0.33 | 0.04 |
| Biomass_E2    | -1.00  | 1            | 98          | 95     | 8.28E+01     | 2.52E+02  | 1.50E+01 | 7.87E+00    | 8.28E+01  | 2.47E+04 | 1.48E+03 | 3.04E+03  | 1.05E+01 | 3.21E+01  | 1.91  | 1.28E-03  | 7.79E-138    | 6.69E-06    | 8.65E-33                 | 1.09E-06  | 0.84 | 0.00             | 0.85      | 0.05 | 0.10 |
| DOH_E3        | 0.13   | 1            | 102         | 102    | 7.02E+03     | 1.20E+02  | 5.27E+01 | 1.20E+00    | 7.02E+03  | 1.23E+04 | 5.98E+03 | 4.95E+02  | 6.35E+03 | 1.00E+02  | 48.91 | 2.04E-252 | 7.53E-239    | 2.81E-170   | 7.13E-42                 | 8.92E-166 | 0.97 | 0.29             | 0.48      | 0.21 | 0.02 |
| ADON_E3       | 0.28   | 1            | 102         | 102    | 8.78E+03     | 3.48E+02  | 8.03E+01 | 2.98E+00    | 8.78E+03  | 3.55E+04 | 8.19E+03 | 1.23E+03  | 2.94E+03 | 1.17E+02  | 26.94 | 8.96E-190 | 1.00E-251    | 2.69E-132   | 1.73E-39                 | 4.19E-121 | 0.97 | 0.15             | 0.67      | 0.15 | 0.02 |
| TCTB_E3       | 0.25   | 1            | 102         | 102    | 7.82E+03     | 3.15E+02  | 7.15E+01 | 2.69E+00    | 7.82E+03  | 3.21E+04 | 7.79E+03 | 1.07E+03  | 3.01E+03 | 1.21E+02  | 27.47 | 2.29E-191 | 8.00E-255    | 8.85E-134   | 3.84E-39                 | 1.11E-122 | 0.97 | 0.15             | 0.67      | 0.15 | 0.02 |
| Ratio_TCTB_E3 | 0.62   | 1            | 83          | 64     | 1.17E+01     | 6.73E+02  | 4.96E+02 | 1.76E+03    | 1.17E+01  | 5.58E+00 | 3.98E+00 | 5.06E+01  | 6.66E+03 | 3.83E+01  | 28.25 | 4.19E-201 | 7.96E-117    | 1.96E-92    | 3.77E-32                 | 2.07E-48  | 0.96 | 0.55             | 0.27      | 0.15 | 0.03 |
| Biomass_E3    | 0.50   | 1            | 101         | 97     | 1.64E+01     | 2.09E+02  | 1.97E+02 | 2.55E+03    | 1.64E+01  | 2.01E+00 | 1.91E+00 | 1.02E+00  | 6.40E+01 | 7.80E+00  | 7.70  | 1.36E-14  | 3.10E-51     | 1.93E-49    | 8.77E-24                 | 8.29E-21  | 0.7  | 0.04             | 0.40      | 0.39 | 0.16 |
| LATENCY_E1    | 2.00   | 1            | 90          | 73     | 4.62E+08     | 4.47E+07  | 1.48E+07 | 1.14E+06    | 4.62E+08  | 4.07E+09 | 1.98E+09 | 1.80E+09  | 4.01E+02 | 3.91E+01  | 13.01 | 3.79E-80  | 0.00E+00     | 5.09E-115   | 8.90E-38                 | 1.11E-79  | 0.73 | 0.06             | 0.55      | 0.15 | 0.24 |
| SPEED_E1      | 0.28   | 1            | 90          | 73     | 6.73E+01     | 1.37E+01  | 4.59E+02 | 3.37E+03    | 6.73E+01  | 1.23E+01 | 3.85E+00 | 5.22E+00  | 2.00E+02 | 4.05E+01  | 13.01 | 9.37E-83  | 0.00E+00     | 3.09E-100   | 1.11E-29                 | 1.12E-90  | 0.73 | 0.03             | 0.57      | 0.15 | 0.25 |
| AUC_E1        | 0.91   | 1            | 90          | 73     | 1.60E+04     | 1.78E+03  | 4.36E+02 | 2.65E+01    | 1.60E+04  | 1.60E+05 | 3.88E+04 | 4.15E+04  | 6.03E+02 | 6.71E+01  | 26.47 | 5.74E-113 | 0.00E+00     | 3.84E-145   | 1.15E-25                 | 3.69E-73  | 0.82 | 0.06             | 0.64      | 0.13 | 0.17 |
| OD_4D_E1      | 0.85   | 1            | 90          | 73     | 6.04E+00     | 4.84E+01  | 1.29E+01 | 5.22E+03    | 6.04E+00  | 4.36E+01 | 9.42E+00 | 8.07E+00  | 1.06E+03 | 9.24E+01  | 26.71 | 1.19E-189 | 0.00E+00     | 1.02E-207   | 8.14E-30                 | 1.76E-102 | 0.87 | 0.09             | 0.65      | 0.14 | 0.12 |
| ASWV_E1       | 1.01   | 1            | 90          | 73     | 2.39E+00     | 4.22E+01  | 1.20E+01 | 9.90E+03    | 2.39E+00  | 3.79E+01 | 8.74E+00 | 1.95E+01  | 2.40E+02 | 4.25E+01  | 12.10 | 1.06E-50  | 0.00E+00     | 2.23E-106   | 1.28E-31                 | 1.04E-76  | 0.73 | 0.04             | 0.59      | 0.14 | 0.24 |
| LATENCY_E2    | 2.00   | 1            | 87          | 68     | 8.01E+07     | 4.01E+07  | 1.32E+07 | 9.65E+05    | 8.01E+07  | 3.49E+09 | 1.41E+09 | 1.41E+09  | 8.32E+01 | 4.17E+01  | 13.75 | 2.36E-19  | 0.00E+00     | 3.57E-113   | 3.84E-39                 | 1.35E-46  | 0.74 | 0.01             | 0.59      | 0.15 | 0.24 |
| SPEED_E2      | 0.53   | 1            | 87          | 68     | 2.41E+02     | 9.50E+03  | 3.96E+03 | 2.90E+04    | 2.41E+02  | 8.27E+01 | 2.69E+01 | 3.60E+01  | 9.76E+01 | 3.85E+01  | 16.06 | 2.51E-22  | 2.33E-315    | 5.19E-132   | 1.93E-32                 | 4.51E-77  | 0.73 | 0.02             | 0.56      | 0.18 | 0.25 |
| AUC_E2        | 0.96   | 1            | 87          | 67     | 1.86E+03     | 2.82E+03  | 1.42E+03 | 5.67E+01    | 1.86E+03  | 2.43E+05 | 9.52E+04 | 8.10E+04  | 3.29E+01 | 4.99E+01  | 25.03 | 1.21E-08  | 0.00E+00     | 2.37E-193   | 1.91E-35                 | 1.04E-56  | 0.79 | 0.00             | 0.58      | 0.23 | 0.19 |
| OD_4D_E2      | 0.76   | 1            | 87          | 67     | 5.11E+01     | 6.79E+01  | 1.42E+01 | 8.29E+03    | 5.11E+01  | 5.91E+01 | 2.65E+01 | 1.15E+01  | 6.16E+01 | 8.20E+01  | 47.80 | 8.27E-15  | 0.00E+00     | 9.70E-32    | 2.46E-54                 | 2.46E-54  | 0.87 | 0.01             | 0.61      | 0.27 | 0.12 |
| ASWV_E2       | 1.24   | 1            | 87          | 68     | 6.20E+03     | 2.91E+01  | 1.31E+01 | 4.89E+05    | 6.20E+03  | 2.53E+01 | 8.98E+00 | 1.01E+01  | 8.95E+01 | 4.21E+01  | 18.95 | 3.44E-01  | 0.00E+00     | 2.82E-154   | 7.44E-39                 | 6.55E-44  | 0.75 | 0.00             | 0.57      | 0.20 | 0.23 |
| LATENCY_E3    | 1.92   | 1            | 62          | 51     | 7.72E+08     | 1.77E+07  | 1.55E+07 | 4.89E+05    | 7.72E+08  | 1.10E+09 | 7.91E+08 | 5.66E+08  | 1.49E+03 | 3.62E+01  | 31.73 | 1.40E-208 | 1.58E-224    | 1.15E-181   | 3.06E-34                 | 1.42E-108 | 0.81 | 0.23             | 0.35      | 0.25 | 0.18 |
| SPEED_E3      | 0.28   | 1            | 62          | 51     | 1.42E+01     | 1.31E+01  | 1.85E+01 | 2.46E+03    | 1.42E+01  | 8.14E+00 | 9.98E+00 | 2.90E+00  | 5.77E+03 | 5.34E+01  | 75.18 | 0.00E+00  | 0.00E+00     | 1.84E-35    | 4.94E-27                 | 0.91      | 0.41 | 0.23             | 0.27      | 0.08 |      |
| AUC_E3        | 0.64   | 1            | 62          | 51     | 2.89E+04     | 2.49E+02  | 8.57E+01 | 1.53E+00    | 2.89E+04  | 1.54E+04 | 4.37E+03 | 1.72E+03  | 1.89E+04 | 1.62E+02  | 55.95 | 0.00E+00  | 0.00E+00     | 1.09E-269   | 1.29E-30                 | 1.90E-120 | 0.96 | 0.57             | 0.31      | 0.08 | 0.03 |
| OD_4D_E3      | 0.51   | 1            | 62          | 51     | 9.84E+01     | 1.02E+00  | 3.78E+01 | 5.86E+03    | 9.84E+01  | 6.35E+01 | 1.93E+01 | 6.06E+00  | 1.86E+04 | 1.75E+02  | 64.57 | 0.00E+00  | 0.00E+00     | 4.50E-203   | 2.08E-30                 | 4.50E-203 | 0.96 | 0.52             | 0.34      | 0.10 | 0.04 |
| ASWV_E3       | 0.55   | 1            | 62          | 51     | 9.75E+01     | 7.65E+01  | 7.73E+01 | 8.44E+03    | 9.75E+01  | 4.74E+01 | 3.94E+01 | 6.90E+00  | 1.10E+04 | 9.07E+01  | 91.63 | 0.00E+00  | 0.00E+00     | 1.03E+00    | 1.03E+00                 | 0.00E+00  | 0.95 | 0.50             | 0.25      | 0.21 | 0.05 |

Supplementary table 5: Analysis of Variance for Model 2 testing the Genotype effect, the R squared adjuted , Shapiro Wilk test pValue and Levene test pValue of the residues of the model and the explained variance Eta<sup>2</sup> for all factors and residuals.

| Variable        | Lambda | Df  | Mean squared |           | Sum squared |          | F value  | Pr(>F) | Shapiro_pval | Levene_pval | R2 model | modelChoose  | Eta <sup>2</sup> |           |
|-----------------|--------|-----|--------------|-----------|-------------|----------|----------|--------|--------------|-------------|----------|--------------|------------------|-----------|
|                 |        |     | Genotype     | Residuals | Genotype    | Residual |          |        |              |             |          |              | G                | Residuals |
| BiomasspE1      | 0.74   | 102 | 1.90E-05     | 6.00E-06  | 1.90E-03    | 1.14E-03 | 3.36E+00 | 0.00   | 3.84E-25     | 1.19E-01    | 0.44     | Model_Normal | 0.62             | 0.38      |
| BiomasspE2      | 0      | 95  | 4.18E+02     | 4.29E+02  | 3.97E+04    | 8.10E+04 | 9.75E-01 | 0.55   | 9.41E-35     | 5.03E-01    | -0.01    | Model_trans  | 0.33             | 0.67      |
| BiomasspE3      | 2      | 97  | 2.11E-02     | 2.96E-03  | 2.05E+00    | 5.81E-01 | 7.12E+00 | 0.00   | 6.10E-06     | 8.47E-01    | 0.67     | Model_trans  | 0.78             | 0.22      |
| TCTBpE1         | 1.08   | 102 | 3.54E-02     | 2.22E-03  | 3.61E+00    | 4.57E-01 | 1.59E+01 | 0.00   | 6.01E-25     | 9.96E-02    | 0.83     | Model_trans  | 0.89             | 0.11      |
| TCTBpE2         | 1.53   | 95  | 1.43E-02     | 1.75E-03  | 1.35E+00    | 3.31E-01 | 8.15E+00 | 0.00   | 4.47E-20     | 1.62E-01    | 0.71     | Model_trans  | 0.8              | 0.2       |
| TCTBpE3         | 0.85   | 102 | 8.56E-02     | 1.60E-03  | 8.73E+00    | 3.29E-01 | 5.37E+01 | 0.00   | 2.51E-16     | 4.19E-01    | 0.95     | Model_trans  | 0.96             | 0.04      |
| RatiopE1        | 0.18   | 77  | 4.15E-01     | 5.14E-02  | 3.20E+01    | 7.97E+00 | 8.08E+00 | 0.00   | 1.65E-21     | 3.96E-05    | 0.7      | Model_trans  | 0.8              | 0.2       |
| RatiopE2        | 0.36   | 75  | 1.01E-01     | 6.36E-03  | 7.58E+00    | 9.35E-01 | 1.59E+01 | 0.00   | 1.08E-27     | 5.24E-01    | 0.83     | Model_trans  | 0.89             | 0.11      |
| RatiopE3        | 2      | 64  | 9.03E-03     | 2.71E-04  | 5.78E-01    | 3.30E-02 | 3.33E+01 | 0.00   | 7.65E-17     | 5.75E-01    | 0.92     | Model_trans  | 0.95             | 0.05      |
| ADONpE1         | 1.02   | 102 | 4.04E-02     | 2.52E-03  | 4.12E+00    | 5.19E-01 | 1.60E+01 | 0.00   | 9.30E-25     | 8.23E-02    | 0.83     | Model_trans  | 0.89             | 0.11      |
| ADONpE2         | 1.5    | 95  | 1.55E-02     | 2.01E-03  | 1.47E+00    | 3.79E-01 | 7.73E+00 | 0.00   | 3.73E-20     | 1.14E-01    | 0.69     | Model_trans  | 0.8              | 0.2       |
| ADONpE3         | 0.88   | 102 | 7.92E-02     | 1.67E-03  | 8.07E+00    | 3.44E-01 | 4.75E+01 | 0.00   | 3.65E-16     | 4.17E-01    | 0.94     | Model_trans  | 0.96             | 0.04      |
| DONpE1          | 1.47   | 102 | 1.97E-02     | 1.26E-03  | 2.00E+00    | 2.59E-01 | 1.56E+01 | 0.00   | 2.36E-25     | 3.45E-01    | 0.83     | Model_trans  | 0.89             | 0.11      |
| DONpE2          | 2      | 95  | 1.75E+04     | 4.92E+02  | 1.66E+06    | 9.26E+04 | 3.56E+01 | 0.00   | 1.50E-19     | 3.45E-02    | 0.92     | Model_Normal | 0.95             | 0.05      |
| DONpE3          | 0.28   | 102 | 1.17E+07     | 1.10E+05  | 1.19E+09    | 2.26E+07 | 1.07E+02 | 0.00   | 1.32E-22     | 3.54E-01    | 0.97     | Model_Normal | 0.98             | 0.02      |
| Biomass_coef_E1 | 2      | 102 | 6.08E-03     | 4.27E-04  | 6.21E-01    | 8.80E-02 | 1.42E+01 | 0.00   | 6.28E-33     | 2.51E-06    | 0.81     | Model_trans  | 0.88             | 0.12      |
| Biomass_coef_E2 | 1.28   | 95  | 5.07E-03     | 3.22E-03  | 4.81E-01    | 6.08E-01 | 1.57E+00 | 0.00   | 1.19E-23     | 4.61E-03    | 0.16     | Model_trans  | 0.44             | 0.56      |
| Biomass_coef_E3 | 2      | 97  | 1.70E-02     | 2.83E-03  | 1.65E+00    | 5.55E-01 | 6.02E+00 | 0.00   | 4.29E-09     | 7.33E-01    | 0.62     | Model_trans  | 0.75             | 0.25      |
| TCTB_coef_E1    | 2      | 84  | 1.52E-02     | 1.23E-03  | 1.27E+00    | 2.07E-01 | 1.23E+01 | 0.00   | 1.05E-20     | 3.20E-01    | 0.79     | Model_trans  | 0.86             | 0.14      |
| TCTB_coef_E2    | 2      | 78  | 3.25E-03     | 8.98E-04  | 2.53E-01    | 1.37E-01 | 3.62E+00 | 0.00   | 2.57E-27     | 7.36E-05    | 0.47     | Model_trans  | 0.65             | 0.35      |
| TCTB_coef_E3    | 1.35   | 82  | 4.59E-02     | 2.35E-03  | 3.76E+00    | 3.86E-01 | 1.95E+01 | 0.00   | 8.60E-15     | 3.07E-01    | 0.86     | Model_trans  | 0.91             | 0.09      |
| Ratio_coef_E1   | 2      | 76  | 2.31E-01     | 1.21E-02  | 1.76E+01    | 1.86E+00 | 1.91E+01 | 0.00   | 6.36E-08     | 9.16E-01    | 0.86     | Model_Normal | 0.9              | 0.1       |
| Ratio_coef_E2   | 2      | 73  | 1.62E-03     | 9.05E-04  | 1.18E-01    | 1.29E-01 | 1.79E+00 | 0.00   | 3.22E-29     | 5.36E-01    | 0.21     | Model_trans  | 0.48             | 0.52      |
| Ratio_coef_E3   | 2      | 64  | 1.66E-02     | 4.98E-04  | 1.06E+00    | 6.08E-02 | 3.33E+01 | 0.00   | 1.99E-20     | 1.19E-01    | 0.92     | Model_trans  | 0.95             | 0.05      |
| ADON_coef_E1    | 2      | 84  | 1.49E-02     | 1.19E-03  | 1.25E+00    | 2.01E-01 | 1.24E+01 | 0.00   | 5.30E-21     | 3.54E-01    | 0.79     | Model_trans  | 0.86             | 0.14      |
| ADON_coef_E2    | 2      | 78  | 3.38E-03     | 9.19E-04  | 2.63E-01    | 1.41E-01 | 3.67E+00 | 0.00   | 1.26E-26     | 8.45E-05    | 0.47     | Model_trans  | 0.65             | 0.35      |
| ADON_coef_E3    | 1.3    | 82  | 4.97E-02     | 2.66E-03  | 4.08E+00    | 4.37E-01 | 1.87E+01 | 0.00   | 5.58E-15     | 3.06E-01    | 0.86     | Model_trans  | 0.9              | 0.1       |
| DON_coef_E1     | 2      | 80  | 1.96E-02     | 1.59E-03  | 1.57E+00    | 2.57E-01 | 1.24E+01 | 0.00   | 1.03E-17     | 4.92E-01    | 0.79     | Model_trans  | 0.86             | 0.14      |
| DON_coef_E2     | 2      | 73  | 1.30E-02     | 1.10E-03  | 9.46E-01    | 1.57E-01 | 1.18E+01 | 0.00   | 3.90E-18     | 1.42E-01    | 0.79     | Model_trans  | 0.86             | 0.14      |
| DON_coef_E3     | 2      | 80  | 8.93E-02     | 1.04E-03  | 7.14E+00    | 1.69E-01 | 8.55E+01 | 0.00   | 1.94E-20     | 9.37E-04    | 0.97     | Model_Normal | 0.98             | 0.02      |
| SPEEDp_E1       | 1.37   | 73  | 5.07E-02     | 3.28E-03  | 3.70E+00    | 2.36E+00 | 1.55E+01 | 0.00   | 2.44E-18     | 7.33E-07    | 0.57     | Model_trans  | 0.61             | 0.39      |
| AUCp_E1         | 1.23   | 73  | 1.11E-01     | 4.36E-03  | 8.10E+00    | 3.14E+00 | 2.55E+01 | 0.00   | 1.62E-14     | 2.34E-13    | 0.69     | Model_trans  | 0.72             | 0.28      |
| ASYMp_E1        | 2      | 73  | 3.58E-02     | 1.81E-03  | 2.62E+00    | 1.30E+00 | 1.98E+01 | 0.00   | 2.69E-16     | 4.14E-12    | 0.63     | Model_trans  | 0.67             | 0.33      |
| DO_4Dp_E1       | 1.36   | 73  | 1.21E-01     | 3.64E-03  | 8.86E+00    | 2.62E+00 | 3.34E+01 | 0.00   | 3.06E-18     | 6.05E-12    | 0.75     | Model_trans  | 0.77             | 0.23      |
| Latencyp_E1     | 2      | 73  | 2.04E+02     | 1.72E+01  | 1.49E+04    | 1.24E+04 | 1.18E+01 | 0.00   | 9.16E-18     | 1.68E-18    | 0.5      | Model_Normal | 0.55             | 0.45      |
| SPEED_coef_E1   | 2      | 73  | 9.54E-01     | 4.32E-02  | 6.96E+01    | 3.12E+01 | 2.21E+01 | 0.00   | 6.10E-16     | 1.41E-11    | 0.66     | Model_Normal | 0.69             | 0.31      |
| AUC_coef_E1     | 2      | 73  | 4.61E-02     | 1.30E-03  | 3.37E+00    | 9.36E-01 | 3.55E+01 | 0.00   | 1.23E-16     | 1.39E-26    | 0.76     | Model_trans  | 0.78             | 0.22      |
| ASYM_coef_E1    | 1.12   | 73  | 1.26E-01     | 4.48E-03  | 9.17E+00    | 3.23E+00 | 2.80E+01 | 0.00   | 4.00E-17     | 1.97E-20    | 0.71     | Model_trans  | 0.74             | 0.26      |
| DO_4D_coef_E1   | 2      | 73  | 4.30E-02     | 1.03E-03  | 3.14E+00    | 7.40E-01 | 4.19E+01 | 0.00   | 1.53E-23     | 7.70E-17    | 0.79     | Model_trans  | 0.81             | 0.19      |
| Latency_coef_E1 | 1.99   | 73  | 4.13E-02     | 3.91E-03  | 3.01E+00    | 2.82E+00 | 1.05E+01 | 0.00   | 1.01E-18     | 2.59E-22    | 0.47     | Model_trans  | 0.52             | 0.48      |
| SPEEDp_E2       | 1.1    | 69  | 3.14E-02     | 1.96E-03  | 2.17E+00    | 1.20E+00 | 1.60E+01 | 0.00   | 2.84E-18     | 8.50E-16    | 0.6      | Model_Normal | 0.64             | 0.36      |
| AUCp_E2         | 1.15   | 69  | 2.22E-01     | 7.86E-03  | 1.53E+01    | 4.82E+00 | 2.83E+01 | 0.00   | 7.53E-19     | 2.73E-10    | 0.73     | Model_trans  | 0.76             | 0.24      |
| ASYMp_E2        | 1.56   | 69  | 7.48E-02     | 3.42E-03  | 5.16E+00    | 2.10E+00 | 2.19E+01 | 0.00   | 2.31E-21     | 3.95E-09    | 0.68     | Model_trans  | 0.71             | 0.29      |
| DO_4Dp_E2       | 1.05   | 69  | 2.64E-01     | 5.49E-03  | 1.82E+01    | 3.36E+00 | 4.81E+01 | 0.00   | 2.72E-17     | 2.04E-10    | 0.83     | Model_trans  | 0.84             | 0.16      |
| Latencyp_E2     | 0.16   | 69  | 1.61E+06     | 1.86E+05  | 1.11E+08    | 1.14E+08 | 8.66E+00 | 0.00   | 1.75E-26     | 3.25E-13    | 0.44     | Model_Normal | 0.49             | 0.51      |
| SPEED_coef_E2   | 2      | 69  | 2.53E-02     | 2.21E-03  | 1.74E+00    | 1.35E+00 | 1.15E+01 | 0.00   | 8.25E-25     | 4.25E-22    | 0.51     | Model_trans  | 0.56             | 0.44      |
| AUC_coef_E2     | 1.02   | 69  | 4.24E+01     | 1.64E+01  | 2.92E+03    | 1.00E+04 | 2.59E+00 | 0.00   | 3.70E-48     | 5.37E-26    | 0.14     | Model_Normal | 0.23             | 0.77      |
| ASYM_coef_E2    | 1.69   | 69  | 6.36E-02     | 2.85E-03  | 4.39E+00    | 1.74E+00 | 2.24E+01 | 0.00   | 3.87E-25     | 8.32E-22    | 0.68     | Model_trans  | 0.72             | 0.28      |
| DO_4D_coef_E2   | 0.1    | 69  | 1.56E-01     | 1.01E-01  | 1.08E+01    | 6.20E+01 | 1.55E+00 | 0.00   | 2.03E-48     | 1.73E-03    | 0.05     | Model_trans  | 0.15             | 0.85      |
| Latency_coef_E2 | 1.78   | 69  | 3.26E-02     | 3.74E-03  | 2.25E+00    | 2.29E+00 | 8.73E+00 | 0.00   | 9.46E-24     | 2.79E-10    | 0.44     | Model_trans  | 0.5              | 0.5       |
| SPEEDp_E3       | 0.67   | 51  | 5.71E-01     | 7.23E-03  | 2.91E+01    | 3.69E+00 | 7.89E+01 | 0.00   | 5.93E-23     | 2.17E-09    | 0.88     | Model_trans  | 0.89             | 0.11      |
| AUCp_E3         | 0.39   | 51  | 2.13E+06     | 3.52E+04  | 1.08E+08    | 1.80E+07 | 6.04E+01 | 0.00   | 1.09E-21     | 6.17E-05    | 0.84     | Model_Normal | 0.86             | 0.14      |
| ASYMp_E3        | 0.88   | 51  | 4.10E-01     | 4.88E-03  | 2.09E+01    | 2.49E+00 | 8.39E+01 | 0.00   | 1.13E-25     | 2.76E-10    | 0.88     | Model_trans  | 0.89             | 0.11      |
| DO_4Dp_E3       | 0.27   | 51  | 2.64E+00     | 2.61E-02  | 1.35E+02    | 1.33E+01 | 1.01E+02 | 0.00   | 1.54E-19     | 5.38E-16    | 0.9      | Model_trans  | 0.91             | 0.09      |
| Latencyp_E3     | 1.58   | 51  | 1.30E-01     | 3.10E-03  | 6.61E+00    | 1.58E+00 | 4.18E+01 | 0.00   | 7.70E-16     | 1.16E-08    | 0.79     | Model_trans  | 0.81             | 0.19      |
| SPEED_coef_E3   | 2      | 51  | 1.54E-01     | 1.17E-03  | 7.85E+00    | 5.98E-01 | 1.31E+02 | 0.00   | 1.19E-22     | 1.26E-09    | 0.92     | Model_trans  | 0.93             | 0.07      |
| AUC_coef_E3     | 1.13   | 51  | 4.23E-01     | 3.35E-03  | 2.16E+01    | 1.71E+00 | 1.26E+02 | 0.00   | 4.37E-18     | 9.29E-07    | 0.92     | Model_Normal | 0.93             | 0.07      |
| ASYM_coef_E3    | 1.82   | 51  | 2.30E-01     | 1.22E-03  | 1.17E+01    | 6.24E-01 | 1.88E+02 | 0.00   | 9.56E-25     | 1.63E-06    | 0.95     | Model_trans  | 0.95             | 0.05      |
| DO_4D_coef_E3   | 2      | 51  | 1.24E-01     | 1.05E-03  | 6.32E+00    | 5.35E-01 | 1.18E+02 | 0.00   | 8.27E-09     | 2.25E-03    | 0.91     | Model_trans  | 0.92             | 0.08      |
| Latency_coef_E3 | 0.8    | 50  | 1.09E+00     | 2.50E-02  | 5.47E+01    | 1.25E+01 | 4.37E+01 | 0.00   | 4.13E-17     | 1.01E-07    | 0.8      | Model_trans  | 0.81             | 0.19      |

Supplementary Table 6: Analysis of Variance for Model 3 including the Genotype, Environment and ExG effects, the R squared adjuted, Shapiro Wilk test pValue and Levene test pValue of the residues of the model and the explained variance Eta<sup>2</sup> for all factors and residuals.

| Variable     | lambda   | Df-Environment | Df-Genotype | Df-ExG | Mean squared |          |          | Sum squared |             |          | F value  |          |          |          |
|--------------|----------|----------------|-------------|--------|--------------|----------|----------|-------------|-------------|----------|----------|----------|----------|----------|
|              |          |                |             |        | Environment  | Genotype | ExG      | Residuals   | Environment | Genotype |          | ExG      | Residual |          |
| Biomass_PP   | 2.00E+00 | 2              | 102         | 192    | 6.45E-02     | 6.86E-03 | 7.01E-03 | 9.90E-04    | 1.29E-01    | 1.35E+00 | 5.83E-01 | 6.54E+01 | 6.96E+00 | 7.12E+00 |
| TCTB_PP      | 5.34E-01 | 2              | 102         | 189    | 3.27E+07     | 2.22E+05 | 2.29E+05 | 9.46E+03    | 6.55E+07    | 4.33E+07 | 5.50E+06 | 3.46E+03 | 2.35E+01 | 2.42E+01 |
| Ratio_PP     | 1.86E+00 | 2              | 81          | 135    | 7.01E-01     | 2.90E-03 | 3.13E-03 | 9.00E-05    | 1.40E+00    | 4.23E-01 | 3.98E-02 | 7.49E+03 | 3.09E+01 | 3.34E+01 |
| ADON_PP      | 5.36E-01 | 2              | 102         | 189    | 2.27E+07     | 1.69E+05 | 1.75E+05 | 8.17E+03    | 4.54E+07    | 3.30E+07 | 4.75E+06 | 2.78E+03 | 2.07E+01 | 2.14E+01 |
| DON_PP       | 1.12E-01 | 2              | 102         | 189    | 9.17E+05     | 6.12E+03 | 6.11E+03 | 9.84E-01    | 1.83E+06    | 6.24E+05 | 5.72E+04 | 9.32E+03 | 6.21E+01 | 6.21E+01 |
| Biomass_coef | 2.00E+00 | 2              | 102         | 192    | 2.66E-03     | 4.84E-03 | 1.60E-04 | 1.60E-04    | 5.33E-02    | 3.17E-02 | 9.19E-02 | 1.71E+01 | 3.11E+01 | 1.06E+00 |
| TCTB_coef    | 2.00E+00 | 2              | 86          | 153    | 8.32E-01     | 7.08E-03 | 5.28E-03 | 1.66E-03    | 1.66E+00    | 6.09E-01 | 7.85E-01 | 5.01E+02 | 4.27E+00 | 3.18E+00 |
| ADON_coef    | 2.00E+00 | 2              | 86          | 153    | 6.08E-01     | 5.45E-03 | 4.43E-03 | 1.51E-03    | 1.22E+00    | 6.77E-01 | 7.14E-01 | 4.03E+02 | 3.61E+00 | 2.93E+00 |
| DON_coef     | 2.00E+00 | 2              | 83          | 150    | 9.34E-01     | 7.34E-03 | 5.03E-03 | 1.26E-03    | 1.87E+00    | 7.59E-01 | 5.82E-01 | 7.42E+02 | 5.83E+00 | 4.00E+00 |
| Ratio_coef   | 2.00E+00 | 2              | 80          | 134    | 1.47E+00     | 7.96E-03 | 9.72E-03 | 4.50E-04    | 2.94E+00    | 1.30E+00 | 1.90E-01 | 3.28E+03 | 1.77E+01 | 2.16E+01 |
| SPEEDp       | 6.86E-01 | 2              | 86          | 107    | 4.31E+00     | 5.38E-02 | 7.53E-02 | 1.44E-03    | 8.62E+00    | 4.63E+00 | 2.66E+00 | 2.99E+03 | 3.73E+01 | 5.22E+01 |
| AUCp         | 9.19E-01 | 2              | 86          | 107    | 3.02E+08     | 8.71E+05 | 1.41E+06 | 3.04E-04    | 6.04E+08    | 7.49E+07 | 1.50E+08 | 5.60E+07 | 2.87E+01 | 4.63E+01 |
| ASYMp        | 8.67E-01 | 2              | 86          | 107    | 3.26E+04     | 1.45E+02 | 2.86E+02 | 4.24E+00    | 6.52E+04    | 3.06E-04 | 7.82E+03 | 7.69E+03 | 3.42E+01 | 6.74E+01 |
| OD_4bp       | 7.02E-01 | 2              | 86          | 107    | 2.20E+04     | 1.18E+02 | 1.48E+02 | 2.28E+00    | 4.41E+04    | 1.01E+04 | 4.21E+03 | 9.66E+03 | 5.17E+01 | 6.51E+01 |
| Latencyp     | 8.07E-01 | 2              | 86          | 107    | 2.23E+08     | 3.92E+06 | 3.91E+06 | 1.51E-05    | 4.47E+08    | 3.37E+08 | 4.19E+08 | 2.78E+08 | 1.48E+03 | 2.59E+01 |
| SPEED_coef   | 2.00E+00 | 2              | 86          | 107    | 4.70E-305    | 3.61E-02 | 3.21E-02 | 1.30E-02    | 2.72E+00    | 3.10E+00 | 3.43E+00 | 1.05E+03 | 2.78E+01 | 2.47E+01 |
| AUC_coef     | 1.08E+00 | 2              | 86          | 107    | 1.30E-17     | 8.10E-04 | 9.60E-04 | 3.10E-04    | 2.48E-02    | 6.93E-02 | 1.03E-01 | 3.97E+01 | 2.58E+00 | 3.07E+00 |
| ASYM_coef    | 1.78E+00 | 2              | 86          | 107    | 0.00E+00     | 9.02E-02 | 2.74E-02 | 1.44E-03    | 8.66E+00    | 7.76E+00 | 2.93E+00 | 3.01E+03 | 6.28E+01 | 1.90E+01 |
| OD_4D_coef   | 1.16E-01 | 2              | 86          | 107    | 4.55E-05     | 3.70E-02 | 5.41E-02 | 2.67E-02    | 5.37E-01    | 3.18E+00 | 5.79E+00 | 1.01E+01 | 1.39E+00 | 2.03E+00 |
| Latency_coef | 2.00E+00 | 2              | 86          | 106    | 2.45E-80     | 4.44E-02 | 5.50E-02 | 3.23E-03    | 1.31E+00    | 3.82E+00 | 5.93E+00 | 2.03E+02 | 1.37E+01 | 1.70E+01 |

| Variable     | Environment | Pr(>F)    | Genotype  | ExG      | Shapiro_pval | Levene_pval | R2 model | model/Choose | Eta <sup>2</sup> |       |           |
|--------------|-------------|-----------|-----------|----------|--------------|-------------|----------|--------------|------------------|-------|-----------|
|              |             |           |           |          |              |             |          |              | E                | G     | Residuals |
| Biomass_PP   | 2.19E-26    | 2.71E-54  | 2.08E-76  | 1.84E-41 | 0.39         | 0.68        | 0.25     | 0.05         | 0.49             | 0.21  | 0.21      |
| TCTB_PP      | 1.48E-323   | 6.44E-151 | 8.85E-190 | 1.07E-42 | 0.00         | 0.94        | 0.17     | 0.48         | 0.32             | 0.040 | 0.040     |
| Ratio_PP     | 0.00E+00    | 5.11E-135 | 4.48E-164 | 2.25E-43 | 0.88         | 0.97        | 0.11     | 0.67         | 0.20             | 0.019 | 0.019     |
| ADON_PP      | 3.77E-298   | 8.52E-139 | 1.36E-176 | 8.25E-43 | 0.00         | 0.93        | 0.17     | 0.45         | 0.33             | 0.047 | 0.047     |
| DON_PP       | 0.00E+00    | 1.11E-254 | 8.93E-297 | 1.17E-44 | 0.00         | 0.98        | 0.17     | 0.50         | 0.31             | 0.016 | 0.016     |
| Biomass_coef | 5.88E-08    | 2.55E-181 | 3.00E-01  | 6.28E-52 | 0.00         | 0.78        | 0.79     | 0.01         | 0.05             | 0.148 | 0.148     |
| TCTB_coef    | 1.33E-117   | 1.41E-24  | 8.90E-22  | 6.34E-42 | 0.35         | 0.69        | 0.16     | 0.43         | 0.21             | 0.203 | 0.203     |
| ADON_coef    | 7.99E-103   | 3.42E-19  | 5.91E-19  | 2.50E-42 | 0.31         | 0.65        | 0.15     | 0.40         | 0.22             | 0.232 | 0.232     |
| DON_coef     | 3.78E-145   | 7.24E-36  | 2.25E-30  | 1.42E-42 | 0.15         | 0.77        | 0.16     | 0.49         | 0.20             | 0.153 | 0.153     |
| Ratio_coef   | 6.82E-257   | 8.51E-94  | 2.35E-128 | 1.09E-36 | 0.00         | 0.94        | 0.13     | 0.58         | 0.26             | 0.038 | 0.038     |
| SPEEDp       | 0.00E+00    | 0.00E+00  | 0.00E+00  | 2.61E-48 | 0.00         | 0.88        | 0.19     | 0.36         | 0.34             | 0.111 | 0.111     |
| AUCp         | 0.00E+00    | 3.97E-277 | 0.00E+00  | 1.44E-47 | 0.00         | 0.93        | 0.08     | 0.68         | 0.17             | 0.063 | 0.063     |
| ASYMp        | 0.00E+00    | 1.27E-317 | 0.00E+00  | 1.24E-46 | 0.00         | 0.93        | 0.11     | 0.56         | 0.26             | 0.067 | 0.067     |
| OD_4bp       | 0.00E+00    | 0.00E+00  | 0.00E+00  | 1.24E-46 | 0.00         | 0.94        | 0.14     | 0.59         | 0.21             | 0.057 | 0.057     |
| Latencyp     | 0.00E+00    | 1.95E-255 | 2.61E-292 | 8.03E-50 | 0.00         | 0.79        | 0.23     | 0.30         | 0.28             | 0.188 | 0.188     |
| SPEED_coef   | 4.70E-305   | 2.97E-270 | 1.96E-281 | 1.29E-46 | 0.00         | 0.77        | 0.27     | 0.23         | 0.29             | 0.205 | 0.205     |
| AUC_coef     | 1.30E-17    | 6.50E-13  | 9.41E-22  | 8.72E-72 | 0.00         | 0.18        | 0.09     | 0.03         | 0.13             | 0.745 | 0.745     |
| ASYM_coef    | 0.00E+00    | 0.00E+00  | 6.62E-226 | 3.99E-45 | 0.00         | 0.87        | 0.35     | 0.39         | 0.13             | 0.121 | 0.121     |
| OD_4D_coef   | 4.55E-05    | 1.23E-02  | 9.18E-09  | 3.78E-72 | 0.00         | 0.87        | 0.05     | 0.01         | 0.10             | 0.838 | 0.838     |
| Latency_coef | 2.45E-80    | 4.55E-142 | 1.64E-202 | 9.51E-39 | 0.00         | 0.61        | 0.23     | 0.08         | 0.35             | 0.351 | 0.351     |

Supplementary table 7: SNPs summary table associated with all traits. CHROM refers to the name of the chromosome on the pH1 reference genome V GCA\_900044135.1 (King et al.2015), POS to the position of the SNP on the chromosome, REF is the reference allele, ALT is the alternative allele, n are the nombre of individuals, PVE are the percentage of phenotypic varition explained, SNP annotation is the allelic substitution effect according to SNPEff analysis, Gene ID are the name of the gene model, Product Description is the description of the gene product according to pH1 genome annotation VGCA\_900044135.1 release in 2021-03-16(King et al. 2017).

| CHROM    | POS     | P. value    | Trait          | Environment | REF | ALT | n   | Allele 1 | Allele 2 | Allele 3 | effect  | PVE%  | SNP annotation                 | Gene ID            | Product Description                                    |
|----------|---------|-------------|----------------|-------------|-----|-----|-----|----------|----------|----------|---------|-------|--------------------------------|--------------------|--|
| HG970332 | 420903  | 2.77709E-10 | biomasse_coef  | E2          | G   | A   | 100 | 0.38     | 0.62     |          | -0.06   | 36.93 | missense variant p.Val1072Met  | FGRAMPH1_01G000343 | Product Description                                    |
| HG970332 | 422223  | 1.81796E-26 | biomassep      | E2          | A   | C   | 98  | 0.1      | 0.9      |          | -0.02   | 42.27 | missense variant p.Ile1512Leu  | FGRAMPH1_01G000343 | ankyrin repeat   |
| HG970332 | 548606  | 3.04453E-10 | biomasse_coef  | E1          | A   | G   | 98  | 0.94     | 0.06     |          | 3.09    | 70    | missense variant p.Ile469Leu   | FGRAMPH1_01G000459 | ankyrin repeat   |
| HG970332 | 7318018 | 5.19968E-15 | AUDPC_coef     | E2          | A   | G   | 102 | 0.94     | 0.06     |          | 4.35    | 36.61 | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G05433* | unnamed protein product                                |
| HG970332 | 7468471 | 1.06168E-09 | Ratio_coef     | E2          | C   | T   | 100 | 0.95     | 0.05     |          | -0.21   | 1.14  | missense variant p.Pro11Ser    | FGRAMPH1_01G05569  | unnamed protein product                                |
| HG970332 | 7587912 | 1.97351E-08 | Ratio_TCTB_OX  | E2          | C   | T   | 99  | 0.95     | 0.05     |          | 0.07    | 89.49 | missense variant p.Pro1010Leu  | FGRAMPH1_01G05663  | maltose permease mal61                                 |
| HG970332 | 9880852 | 1.28781E-08 | ASTM_OX        | E2          | T   | C   | 103 | 0.28     | 0.72     |          | -0.12   | 29.33 | missense variant p.Asp1297Gly  | FGRAMPH1_01G07309  | agglutinin 2   |
| HG970333 | 56982   | 1.01182E-08 | Ratio_TCTB_aw1 | E3          | A   | G   | 99  | 0.06     | 0.94     |          | 0.04    | 46.37 | missense variant p.Lys69Glu    | FGRAMPH1_01G08811  | anucleate primary strigimata                           |
| HG970333 | 608042  | 1.86034E-09 | ADON_coef      | E2          | C   | T   | 101 | 0.13     | 0.87     |          | -0.37   | 49.23 | missense variant p.Tyr271Tyr   | FGRAMPH1_01G09291  | hypothetical protein                                   |
| HG970333 | 609201  | 3.67468E-08 | ADON_coef      | E2          | T   | C   | 99  | 0.14     | 0.86     |          | -2.52   | 49.43 | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G09293* | mfs sp sugar:h+ symporter                              |
| HG970333 | 2834562 | 2.93409E-12 | DON_30         | E1          | G   | A   | 103 | 0.94     | 0.06     |          | -42.27  | 46.7  | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G10943* | acetate decarboxylase                                  |
| HG970333 | 3533835 | 2.98203E-07 | DONp           | E2          | C   | A   | 98  | 0.08     | 0.92     |          | 137.49  | 0.09  | missense variant p.Ala223Glu   | FGRAMPH1_01G11427  | hypothetical protein                                   |
| HG970333 | 4012323 | 2.24431E-19 | AUDPC_coef     | E2          | G   | T   | 101 | 0.95     | 0.05     |          | -4.99   | 61.42 | missense variant p.Arg466Leu   | FGRAMPH1_01G11869  | unnamed protein product                                |
| HG970333 | 4452608 | 5.57923E-09 | DON_30         | E1          | T   | C   | 98  | 0.9      | 0.1      |          | -21.1   | 7.42  | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G12251* | hco3- transporter family                               |
| HG970333 | 4467924 | 1.88415E-07 | DONp           | E2          | A   | C   | 103 | 0.13     | 0.87     |          | -155.21 | 0     | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G12269* | hypothetical protein                                   |
| HG970333 | 4468048 | 1.88415E-07 | DONp           | E2          | T   | A   | 103 | 0.13     | 0.87     |          | 155.21  | 0     | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G12269* | unnamed protein product                                |
| HG970333 | 4474302 | 4.58402E-17 | DONp           | E2          | T   | A   | 101 | 0.13     | 0.87     |          | 95.39   | 48.23 | synonymous variant p.Leu231Leu | FGRAMPH1_01G12279  | unnamed protein product                                |
| HG970333 | 4493717 | 4.43677E-09 | DONp           | E2          | C   | T   | 102 | 0.12     | 0.88     |          | -186.97 | 13.82 | synonymous variant p.Arg131Arg | FGRAMPH1_01G12299  | integral membrane                                      |
| HG970333 | 4493936 | 1.88415E-07 | DONp           | E2          | A   | C   | 103 | 0.13     | 0.87     |          | -155.21 | 0     | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G12297* | integral membrane PTH11                                |
| HG970333 | 4494366 | 2.82455E-08 | DONp           | E2          | T   | C   | 102 | 0.12     | 0.88     |          | 150.62  | 3.3   | synonymous variant p.Asn274Asn | FGRAMPH1_01G12299  | phenol hydroxylase                                     |
| HG970333 | 4494430 | 2.82455E-08 | DONp           | E2          | T   | C   | 102 | 0.12     | 0.88     |          | 150.62  | 0.11  | missense variant p.Gly296Ser   | FGRAMPH1_01G12299  | integral membrane PTH11                                |
| HG970333 | 4494955 | 2.17874E-09 | DONp           | E2          | G   | A   | 100 | 0.12     | 0.88     |          | 151.57  | 0     | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G12297* | integral membrane PTH11                                |
| HG970333 | 4495151 | 5.24196E-11 | DONp           | E2          | G   | A   | 102 | 0.13     | 0.87     |          | 198     | 22.93 | 5 prime UTR                    | FGRAMPH1_01G12301  | phenol hydroxylase                                     |
| HG970333 | 4686200 | 1.20534E-10 | biomasse_aw1   | E3          | G   | G   | 100 | 0.93     | 0.07     |          | 0.01    | 57.47 | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G12467* | Lipase partial   |
| HG970333 | 5126158 | 3.75702E-14 | Ratio_coef     | E2          | C   | T   | 98  | 0.94     | 0.06     |          | -0.37   | 4.51  | missense variant p.Val74Met    | FGRAMPH1_01G12855  | related to beta-galactosidase                          |
| HG970333 | 5221275 | 1.59388E-09 | DONp           | E1          | T   | G   | 102 | 0.06     | 0.94     |          | -6.92   | 68.16 | synonymous variant p.Arg177Arg | FGRAMPH1_01G12941  | amidase  |
| HG970333 | 6017013 | 2.4302E-09  | biomassep      | E2          | C   | T   | 100 | 0.05     | 0.95     |          | 0.01    | 9.79  | synonymous variant p.Gly252Gly | FGRAMPH1_01G13657  | hypothetical protein                                   |
| HG970333 | 6449496 | 2.34006E-09 | biomassep      | E2          | T   | C   | 98  | 0.93     | 0.07     |          | -0.01   | 9.22  | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G14065* | hypothetical protein                                   |
| HG970333 | 6450837 | 2.05935E-08 | Ratio_coef     | E3          | A   | G   | 98  | 0.95     | 0.05     |          | -0.42   | 67.63 | 5 prime UTR                    | FGRAMPH1_01G14069  | 2,5-dichloro-2,5-cyclohexadiene-1,4-diol dehydrogenase |
| HG970333 | 8820369 | 7.87006E-14 | TCTB_coef      | E2          | C   | T   | 101 | 0.94     | 0.06     |          | -1.08   | 33.99 | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G15921* | major facilitator superfamily transporter              |
| HG970333 | 8916088 | 2.26869E-09 | DON_25         | E2          | A   | G   | 98  | 0.53     | 0.47     |          | -25.47  | 28.26 | synonymous variant p.Glu309Glu | FGRAMPH1_01G16013  | unnamed protein product                                |
| HG970334 | 1583977 | 6.45952E-22 | Ratio_p        | E2          | A   | T   | 100 | 0.05     | 0.95     |          | 0.51    | 97.28 | synonymous variant p.Glu309Glu | FGRAMPH1_01G16013  | unnamed protein product                                |
| HG970334 | 1583977 | 6.45952E-22 | Ratio_TCTB_OX  | E2          | A   | T   | 100 | 0.05     | 0.95     |          | -0.11   | 0     | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G17413* | unnamed protein product                                |
| HG970334 | 6902663 | 3.42138E-08 | ASTM_OX        | E2          | A   | G   | 100 | 0.93     | 0.07     |          | -0.18   | 45.65 | synonymous variant p.Tyr493Tyr | FGRAMPH1_01G21275  | elongator complex 5                                    |
| HG970334 | 6915504 | 5.3455E-08  | TCTB_coef      | E2          | G   | T   | 99  | 0.95     | 0.05     |          | -0.75   | 31.06 | missense variant p.Pro169Thr   | FGRAMPH1_01G21515  | positive regulator of purine utilization               |
| HG970334 | 7156876 | 1.56974E-14 | biomassep      | E2          | G   | C   | 100 | 0.13     | 0.87     |          | 0.01    | 12.36 | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G21673* | ankyrin repeat and sam domain containing6              |
| HG970334 | 7269489 | 1.70632E-08 | AUDPC_coef     | E2          | G   | T   | 99  | 0.05     | 0.95     |          | -0.94   | 0.52  | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G21785* | set 5  |
| HG970334 | 7440009 | 3.64308E-14 | Ratio_coef     | E2          | T   | A   | 100 | 0.91     | 0.09     |          | -0.48   | 5.89  | missense variant p.Phe491Tyr   | FGRAMPH1_01G21945  | hypothetical protein                                   |
| HG970334 | 7453712 | 2.28395E-08 | Ratio_coef     | E2          | T   | C   | 100 | 0.93     | 0.07     |          | 0.29    | 2.32  | missense variant p.Ala128Thr   | FGRAMPH1_01G21957  | GMP synthase   |
| HG970335 | 84519   | 3.07855E-11 | DON_30         | E1          | C   | T   | 101 | 0.91     | 0.09     |          | 26.39   | 10.87 | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G22390* | Levanbiose-producing levansase                         |
| HG970335 | 181206  | 3.47596E-07 | Ratio_TCTB_OX  | E2          | G   | T   | 98  | 0.95     | 0.05     |          | -0.03   | 3.75  | synonymous variant p.Ala131Ala | FGRAMPH1_01G22387  | nitrogen assimilation transcription factor nira        |
| HG970335 | 196919  | 2.99632E-10 | TCTB_coef      | E2          | T   | C   | 99  | 0.95     | 0.05     |          | 0.8     | 10.42 | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G22399* | hypothetical protein                                   |
| HG970335 | 196975  | 1.08516E-36 | Ratio_coef     | E2          | T   | C   | 99  | 0.95     | 0.05     |          | 1.85    | 82.96 | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G22399* | hypothetical protein                                   |
| HG970335 | 336188  | 2.03465E-09 | AUDPC_coef     | E2          | C   | T   | 98  | 0.95     | 0.05     |          | -1.66   | 0.2   | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G22507* | aminopeptidase Y                                       |
| HG970335 | 7617353 | 2.0324E-07  | DON_30         | E1          | T   | C,G | 98  | 0.44     | 0.43     | 0.13     | -15.45  | 3     | upstream gene variant          | FGRAMPH1_01G27959* | O-methylsterigmatocystin oxid                          |
| HG970335 | 7951664 | 2.47695E-07 | Ratio_coef     | E2          | C   | T   | 99  | 0.81     | 0.19     |          | 0.11    | 0.38  | synonymous variant p.Asp115Asp | FGRAMPH1_01G28245  | hypothetical protein                                   |

## **Acknowledgement/fundings:**

This research was funded by INRAE Plant Health and Environment Division, the Nouvelle Aquitaine Region, France (Exchange project: N°2020-8664610) and the IdEX Bordeaux University "Investments for the Future" program / GPR Bordeaux Plant Sciences.

## **References**

- Alster, C. J., Allison, S. D., Johnson, N. G., Glassman, S. I., & Treseder, K. K. (2021). Phenotypic plasticity of fungal traits in response to moisture and temperature. *ISME Communications*, 1(1), 43. <https://doi.org/10.1038/s43705-021-00045-9>
- Audenaert, K., Vanheule, A., Höfte, M., & Haesaert, G. (2013). Deoxynivalenol: A Major Player in the Multifaceted Response of *Fusarium* to Its Environment. *Toxins*, 6(1), 1–19. <https://doi.org/10.3390/toxins6010001>
- Auld, J. R., Agrawal, A. A., & Relyea, R. A. (2010). Re-evaluating the costs and limits of adaptive phenotypic plasticity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1681), 503–511. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1355>
- Auwera, G. van der, & O'Connor, B. D. (2020). *Genomics in the cloud: Using Docker, GATK, and WDL in Terra* (First edition). O'Reilly Media.
- Barrett, R., & Schluter, D. (2008). Adaptation from standing genetic variation. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(1), 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.09.008>
- Boenisch, M. J., & Schäfer, W. (2011). *Fusarium graminearum* forms mycotoxin producing infection structures on wheat. *BMC Plant Biology*, 11(1), 110. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-110>
- Bradshaw, A. D. (2006). Unravelling phenotypic plasticity – why should we bother? *New Phytologist*, 170(4), 644–648. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01761.x>
- Bravo-Ruiz, G., Ruiz-Roldán, C., & Roncero, M. I. G. (2013). Lipolytic System of the Tomato Pathogen *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Lycopersici*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, 26(9), 1054–1067. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-13-0082-R>
- Brennan, J. M., Egan, D., Cooke, B. M., & Doohan, F. M. (2005). Effect of temperature on head blight of wheat caused by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum*. *Plant Pathology*, 54(2), 156–160. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01157.x>
- Brennan, J. M., Fagan, B., van Maanen, A., Cooke, B. M., & Doohan, F. M. (2003). Studies on in vitro Growth and Pathogenicity of European *Fusarium* Fungi. *European Journal of Plant Pathology*, 109(6), 577–587. <https://doi.org/10.1023/A:1024712415326>

- Castiblanco, V., Castillo, H. E., & Miedaner, T. (2020). Be flexible and adapt easily—The great role of plasticity relative to genetic variation for aggressiveness of *Fusarium culmorum* isolates. *Journal of Phytopathology*, 168(3), 162–174. <https://doi.org/10.1111/jph.12878>
- Chakraborty, S. (2013). Migrate or evolve: Options for plant pathogens under climate change. *Global Change Biology*, 19(7), 1985–2000. <https://doi.org/10.1111/gcb.12205>
- Chevin, L.-M., Lande, R., & Mace, G. M. (2010). Adaptation, Plasticity, and Extinction in a Changing Environment: Towards a Predictive Theory. *PLoS Biology*, 8(4), e1000357. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000357>
- Cingolani, P., Platts, A., Wang, L. L., Coon, M., Nguyen, T., Wang, L., Land, S. J., Lu, X., & Ruden, D. M. (2012). A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3. *Fly*, 6(2), 80–92. <https://doi.org/10.4161/fly.19695>
- Corwin, J. A., Subedy, A., Eshbaugh, R., & Kliebenstein, D. J. (2016). Expansive Phenotypic Landscape of *Botrytis cinerea* Shows Differential Contribution of Genetic Diversity and Plasticity. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 29(4), 287–298. <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-15-0196-R>
- Cowger, C., Patton-Özkurt, J., Brown-Guedira, G., & Perugini, L. (2009). Post-Anthesis Moisture Increased *Fusarium* Head Blight and Deoxynivalenol Levels in North Carolina Winter Wheat. *The American Phytopathological Society*, 99(4), 320–327. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-4-0320>
- Danecek, P., Bonfield, J. K., Liddle, J., Marshall, J., Ohan, V., Pollard, M. O., Whitwham, A., Keane, T., McCarthy, S. A., Davies, R. M., & Li, H. (2021). Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience*, 10(2), giab008. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab008>
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology: Top 10 fungal pathogens. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414–430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Des Marais, D. L., Hernandez, K. M., & Juenger, T. E. (2013). Genotype-by-Environment Interaction and Plasticity: Exploring Genomic Responses of Plants to the Abiotic Environment. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 44(1), 5–29. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110512-135806>
- DeWitt, T. J., & Scheiner, S. M. (2005). Phenotypic plasticity: Functional and conceptual approaches. *Phenotypic variation from Single Genotypes*. *American Journal of Human Biology*, 17(1), 124–125. <https://doi.org/10.1002/ajhb.20088>
- DeZwaan, T. M., Carroll, A. M., Valent, B., & Sweigard, J. A. (1999). Magnaporthe grisea Pth1p Is a Novel Plasma Membrane Protein That Mediates Appressorium Differentiation in Response to Inductive Substrate Cues. *The Plant Cell*, 11(10), 2013–2030. <https://doi.org/10.1105/tpc.11.10.2013>

- Didion, J. P., Martin, M., & Collins, F. S. (2017). Atropos: Specific, sensitive, and speedy trimming of sequencing reads. *PeerJ*, 5, e3720. <https://doi.org/10.7717/peerj.3720>
- Ding, Y., Gardiner, D. M., Xiao, D., & Kazan, K. (2020). Regulators of nitric oxide signaling triggered by host perception in a plant pathogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(20), 11147–11157. <https://doi.org/10.1073/pnas.1918977117>
- Doehlemann, G., Ökmen, B., Zhu, W., & Sharon, A. (2017). Plant Pathogenic Fungi. *Microbiology Spectrum*, 5(1), 5.1.14. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0023-2016>
- Dubitzky, W., Wolkenhauer, O., Cho, K.-H., & Yokota, H. (Eds.). (2013). Holm-Bonferroni Method. In *Encyclopedia of Systems Biology* (pp. 902–902). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9863-7\\_100629](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9863-7_100629)
- Eizaguirre, C., & Baltazar-Soares, M. (2014). Evolutionary conservation-evaluating the adaptive potential of species. *Evolutionary Applications*, 7(9), 963–967. <https://doi.org/10.1111/eva.12227>
- El-Soda, M., Malosetti, M., Zwaan, B. J., Koornneef, M., & Aarts, M. G. M. (2014). Genotype × environment interaction QTL mapping in plants: Lessons from Arabidopsis. *Trends in Plant Science*, 19(6), 390–398. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.01.001>
- Falconer, D. S. (1952). The Problem of Environment and Selection. *The American Naturalist*, 86(830), 293–298. <https://doi.org/10.1086/281736>
- Fierst, J. L. (2011). A history of phenotypic plasticity accelerates adaptation to a new environment: Phenotypic plasticity accelerates adaptation. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(9), 1992–2001. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02333.x>
- Gallo, M., Giovati, L., Magliani, W., Pertinhez, T. A., Conti, S., Ferrari, E., Spisni, A., & Ciociola, T. (2022). Metabolic Plasticity of *Candida albicans* in Response to Different Environmental Conditions. *Journal of Fungi*, 8(7), 723. <https://doi.org/10.3390/jof8070723>
- Geisen, R., Touhami, N., & Schmidt-Heydt, M. (2017). Mycotoxins as adaptation factors to food related environments. *Current Opinion in Food Science*, 17, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.07.006>
- Ghalambor, C. K., McKAY, J. K., Carroll, S. P., & Reznick, D. N. (2007). Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, 21(3), 394–407. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01283.x>
- Gibert, P., Debat, V., & Ghalambor, C. K. (2019). Phenotypic plasticity, global change, and the speed of adaptive evolution. *Current Opinion in Insect Science*, 35, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2019.06.007>
- Gostinčar, C., Zalar, P., & Gunde-Cimerman, N. (2022). No need for speed: Slow development of fungi in extreme environments. *Fungal Biology Reviews*, 39, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.11.002>



- Harris, L. J., Balcerzak, M., Johnston, A., Schneiderman, D., & Ouellet, T. (2016). Host-preferential *Fusarium graminearum* gene expression during infection of wheat, barley, and maize. *Fungal Biology*, 120(1), 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.10.010>
- Hay, W. T., McCormick, S. P., & Vaughan, M. M. (2021). Effects of Atmospheric CO<sub>2</sub> and Temperature on Wheat and Corn Susceptibility to *Fusarium graminearum* and Deoxynivalenol Contamination. *Plants*, 10(12), 2582. <https://doi.org/10.3390/plants10122582>
- Heitman, Howlett, Crous, Stukenbrock, James, & Gow (Eds.). (2017). Sources of Fungal Genetic Variation and Associating It with Phenotypic Diversity. In *The Fungal Kingdom* (pp. 635–655). American Society of Microbiology. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0057-2016>
- Huang, Y., Qi, Z., Li, J., You, J., Zhang, X., & Wang, M. (2023). Genetic interrogation of phenotypic plasticity informs genome-enabled breeding in cotton. *Journal of Genetics and Genomics*, S1673852723001145. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2023.05.004>
- Josse, J., & Husson, F. (2016). missMDA: A Package for Handling Missing Values in Multivariate Data Analysis. *Journal of Statistical Software*, 70(1). <https://doi.org/10.18637/jss.v070.i01>
- Kao, L.-R., Peterson, J., Ji, R., Bender, L., & Bender, A. (1996). Interactions between the Ankyrin Repeat-Containing Protein Akr1p and the Pheromone Response Pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology*, 16(1), 168–178. <https://doi.org/10.1128/MCB.16.1.168>
- Karlsson, I., Persson, P., & Friberg, H. (2021). *Fusarium* Head Blight from a Microbiome perspective. *Frontiers in Microbiology*, 12, 628373. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628373>
- Kim, S., Lee, J., Park, J., Choi, S., Bui, D.-C., Kim, J.-E., Shin, J., Kim, H., Choi, G. J., Lee, Y.-W., Chang, P.-S., & Son, H. (2023). Genetic and Transcriptional Regulatory Mechanisms of Lipase Activity in the Plant Pathogenic Fungus *Fusarium graminearum*. *Microbiology Spectrum*, 11(3), e05285-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.05285-22>
- King, R., Urban, M., & Hammond-Kosack, K. E. (2017). Annotation of *Fusarium graminearum* (PH-1) Version 5.0. *Genome Announcements*, 5(2), e01479-16. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01479-16>
- King, R., Urban, M., Hammond-Kosack, M. C. U., Hassani-Pak, K., & Hammond-Kosack, K. E. (2015). The completed genome sequence of the pathogenic ascomycete fungus *Fusarium graminearum*. *BMC Genomics*, 16(1), 544. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1756-1>
- Koboldt, D. C., Zhang, Q., Larson, D. E., Shen, D., McLellan, M. D., Lin, L., Miller, C. A., Mardis, E. R., Ding, L., & Wilson, R. K. (2012). VarScan 2: Somatic mutation and copy number alteration discovery in cancer by exome sequencing. *Genome Research*, 22(3), 568–576. <https://doi.org/10.1101/gr.129684.111>

- Kovuri, P., Yadav, A., & Sinha, H. (2023). Role of genetic architecture in phenotypic plasticity. *Trends in Genetics*, S0168952523000884. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2023.04.002>
- Kronholm, I., Johannesson, H., & Ketola, T. (2016). Epigenetic Control of Phenotypic Plasticity in the Filamentous Fungus *Neurospora crassa*. *G3 Genes|Genomes|Genetics*, 6(12), 4009–4022. <https://doi.org/10.1534/g3.116.033860>
- Laitinen, R. A. E., & Nikoloski, Z. (2019). Genetic basis of plasticity in plants. *Journal of Experimental Botany*, 70(3), 739–745. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery404>
- Leanne-Rialland, V., Cabezas-Cruz, A., Atanasova, V., Chereau, S., Ponts, N., Tonk, M., Vilcinskis, A., Ferrer, N., Valdés, J. J., & Richard-Forget, F. (2021). Tick defensin  $\gamma$ -core reduces *Fusarium graminearum* growth and abrogates mycotoxins production with high efficiency. *Scientific Reports*, 11(1), 7962. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86904-w>
- Levy, S. F., & Siegal, M. L. (2008). Network Hubs Buffer Environmental Variation in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS Biology*, 6(11), e264. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060264>
- Li, H. (2013). Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM (arXiv:1303.3997). arXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1303.3997>
- Liao, Y., Peng, Z., Chen, L., Nüssler, A. K., Liu, L., & Yang, W. (2018). Deoxynivalenol, gut microbiota and immunotoxicity: A potential approach? *Food and Chemical Toxicology*, 112, 342–354. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.013>
- Liu, S., Luo, Y., Yang, R., He, C., Cheng, Q., Tao, J., Ren, B., Wang, M., & Ma, M. (2015). High resource-capture and -use efficiency, and effective antioxidant protection contribute to the invasiveness of *Alnus formosana* plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 96, 436–447. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.08.022>
- Mangin, B., Casadebaig, P., Cadic, E., Blanchet, N., Boniface, M.-C., Carrère, S., Gouzy, J., Legrand, L., Mayjonade, B., Pouilly, N., André, T., Coque, M., Piquemal, J., Laporte, M., Vincourt, P., Muñoz, S., & Langlade, N. B. (2017). Genetic control of plasticity of oil yield for combined abiotic stresses using a joint approach of crop modelling and genome-wide association: Multi-stress plasticity for oil yield in sunflower. *Plant, Cell & Environment*, 40(10), 2276–2291. <https://doi.org/10.1111/pce.12961>
- McDonald, B. A., & Linde, C. (2002). Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 40(1), 349–379. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443>
- Medina, A., Akbar, A., Baazeem, A., Rodriguez, A., & Magan, N. (2017). Climate change, food security and mycotoxins: Do we know enough? *Fungal Biology Reviews*, 31, 12. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2017.04.002>
- Merhej, J., Richard-Forget, F., & Barreau, C. (2011). Regulation of trichothecene biosynthesis in *Fusarium*: Recent advances and new insights. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91(3), 519–528. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3397-x>

- Morel-Journel, T., Thuillier, V., Pennekamp, F., Laurent, E., Legrand, D., Chaine, A. S., & Schtickzelle, N. (2020). A multidimensional approach to the expression of phenotypic plasticity. *Functional Ecology*, 34(11), 2338–2349. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13667>
- Mosavi, L. K., Cammett, T. J., Desrosiers, D. C., & Peng, Z. (2004). The ankyrin repeat as molecular architecture for protein recognition. *Protein Science*, 13(6), 1435–1448. <https://doi.org/10.1110/ps.03554604>
- Murren, C. J., Auld, J. R., Callahan, H., Ghalambor, C. K., Handelsman, C. A., Heskell, M. A., Kingsolver, J. G., Maclean, H. J., Masel, J., Maughan, H., Pfennig, D. W., Relyea, R. A., Seiter, S., Snell-Rood, E., Steiner, U. K., & Schlichting, C. D. (2015). Constraints on the evolution of phenotypic plasticity: Limits and costs of phenotype and plasticity. *Heredity*, 115(4), 293–301. <https://doi.org/10.1038/hdy.2015.8>
- Nielsen, M. E., & Papaj, D. R. (2022). Why study plasticity in multiple traits? New hypotheses for how phenotypically plastic traits interact during development and selection. *Evolution*, 76(5), 858–869. <https://doi.org/10.1111/evo.14464>
- Pellon, A., Begum, N., Sadeghi Nasab, S. D., Harzandi, A., Shoaie, S., & Moyes, D. L. (2022). Role of Cellular Metabolism during Candida-Host Interactions. *Pathogens*, 11(2), 184. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020184>
- Peltier, E., Sharma, V., Martí Raga, M., Roncoroni, M., Bernard, M., Jiranek, V., Gibon, Y., & Marullo, P. (2018). Dissection of the molecular bases of genotype x environment interactions: A study of phenotypic plasticity of *Saccharomyces cerevisiae* in grape juices. *BMC Genomics*, 19(1), 772. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5145-4>
- Pigliucci, M. (2005). Evolution of phenotypic plasticity: Where are we going now? *Trends in Ecology & Evolution*, 20(9), 481–486. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.06.001>
- Ponts, N. (2015). Mycotoxins are a component of *Fusarium graminearum* stress-response system. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01234>
- Price, T. D., Qvarnström, A., & Irwin, D. E. (2003). The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1523), 1433–1440. <https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2372>
- Rai, L. S., Singha, R., Brahma, P., & Sanyal, K. (2018). Epigenetic determinants of phenotypic plasticity in *Candida albicans*. *Fungal Biology Reviews*, 32(1), 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2017.07.002>
- Ramirez, M. L., Chulze, S., & Magan, N. (2006). Temperature and water activity effects on growth and temporal deoxynivalenol production by two Argentinean strains of *Fusarium graminearum* on irradiated wheat grain. *International Journal of Food Microbiology*, 106(3), 291–296. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.09.004>
- Ramirez, M. L., Chulze, S. N., & Magan, N. (2004). Impact of osmotic and matric water stress on germination, growth, mycelial water potentials and endogenous accumulation of sugars and

- sugar alcohols in *Fusarium graminearum*. *Mycologia*, 96(3), 470–478. <https://doi.org/10.1080/15572536.2005.11832946>
- Reis, H., Pfiffi, S., & Hahn, M. (2005). Molecular and functional characterization of a secreted lipase from *Botrytis cinerea*. *Molecular Plant Pathology*, 6(3), 257–267. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00280.x>
- Scheiner, S. M. (1993). Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24:35-68. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.24.110193.000343>
- Schmidt-Heydt, M., Magan, N., & Geisen, R. (2008). Stress induction of mycotoxin biosynthesis genes by abiotic factors. *FEMS Microbiology Letters*, 284(2), 142–149. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01182.x>
- Singh, B. K., Delgado-Baquerizo, M., Egidi, E., Guirado, E., Leach, J. E., Liu, H., & Trivedi, P. (2023). Climate change impacts on plant pathogens, food security and paths forward. *Nature Reviews Microbiology*. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00900-7>
- Slepecky, R. A., & Starmer, W. T. (2009). Phenotypic plasticity in fungi: A review with observations on *Aureobasidium pullulans*. *Mycologia*, 101(6), 823–832. <https://doi.org/10.3852/08-197>
- Smith, E. N., & Kruglyak, L. (2008). Gene–Environment Interaction in Yeast Gene Expression. *PLoS Biology*, 6(4), e83. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060083>
- Sobrova, P., Adam, V., Vasatkova, A., Beklova, M., Zeman, L., & Kizek, R. (2010). Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisciplinary Toxicology*, 3(3). <https://doi.org/10.2478/v10102-010-0019-x>
- Sultan, S. E. (2000). Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science*, 5(12), 537–542. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)
- Tam, V., Patel, N., Turcotte, M., Bossé, Y., Paré, G., & Meyre, D. (2019). Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nature Reviews Genetics*, 20(8), 467–484. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0127-1>
- Tan, Y., Zhou, J., Wang, J., & Sun, L. (2020). The Genetic Architecture for Phenotypic Plasticity of the Rice Grain Ionome. *Frontiers in Plant Science*, 11, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00012>
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D., & Zavala, M. A. (2006). Quantitative estimation of phenotypic plasticity: Bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, 94(6), 1103–1116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01176.x>
- Van Heerwaarden, B., & Sgrò, C. M. (2017). The quantitative genetic basis of clinal divergence in phenotypic plasticity: Genetic basis of plasticity. *Evolution*, 71(11), 2618–2633. <https://doi.org/10.1111/evo.13342>

Voigt, C. A., Schäfer, W., & Salomon, S. (2005). A secreted lipase of *Fusarium graminearum* is a virulence factor required for infection of cereals: Lipase as a virulence factor. *The Plant Journal*, 42(3), 364–375. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02377.x>

Walter, S., Nicholson, P., & Doohan, F. M. (2010). Action and reaction of host and pathogen during *Fusarium* head blight disease. *New Phytologist*, 185(1), 54–66. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03041.x>

Wang, J., & Zhang, Z. (2021). GAPIT Version 3: Boosting Power and Accuracy for Genomic Association and Prediction. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 19(4), 629–640. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2021.08.005>

West-Eberhard, M. J. (1989). Phenotypic Plasticity and the Origins of Diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20 (1989), 249–278.

Yin, L., Zhang, H., Tang, Z., Xu, J., Yin, D., Zhang, Z., Yuan, X., Zhu, M., Zhao, S., Li, X., & Liu, X. (2021). rMVP: A Memory-efficient, Visualization-enhanced, and Parallel-accelerated Tool for Genome-wide Association Study. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 19(4), 619–628. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2020.10.007>

### **Data Accessibility Statement**

Raw sequence reads have been deposited at NCBI Sequence Read Archive under the BbioProject (in progress).

Variant Calling File and phenotypic data has been made available on the open data publishing platform Dryad (in progress).

### **Benefit-Sharing Statement**

Benefits from this research include the sharing of both the results of the study and the data the results are based on, as described above.

### **Author Contributions**

Funding acquisition and project administration: MFO. Conceptualization and design of the experiments: AV, MFO. Providing part of biological materials: RV. Carrying out the experiments: AV, MM. Data analyses: AV, TD, MFO. Writing, reviewing, and editing the manuscript: AV, TD, RV and MFO. All authors read and approved the final manuscript.

### 3. Discussion complémentaire à l'article

Dans ce chapitre, le GWAS est la méthode d'association génomique utilisée associant les caractères aux SNPs issu d'un reséquençage complet des génomes. L'objectif du GWAS est d'identifier l'association probable existant entre des génotypes avec des phénotypes, en testant si les différences phénotypiques observées dans une population naturelle sont significativement liées à la fréquence allélique des variants génétiques présents dans la même population. Les SNPs sont les variants génétiques les plus utilisés dans ce type d'étude offrant une résolution à l'échelle nucléotidique. Cette technique est appliquée depuis quelques décennies sur des données animales (Ding et al., 2022; Hindorff et al., 2009), de plantes (*Arabidopsis*, riz, maïs, soja (Atwell et al., 2010; Ravelombola et al., 2021; Srungarapu et al., 2022; Tan et al., 2020; Zhong et al., 2021)), et plus récemment sur des modèles champignons (Muller et al., 2011; Talas et al., 2016; Zhong et al., 2017). Plusieurs outils bio-informatiques ont été développés afin de réaliser ces études d'associations pangénomiques (Bradbury et al., 2007; Wang and Zhang, 2021). Aussi, il est indispensable de prendre en compte la structure génétique de la population (appelée matrice Q) et de la parenté génétique entre individus (appelée matrice K) pour diminuer les associations non-causales et réduire ainsi les faux positifs (erreur de type I). En effet, les fausses associations créées entre les marqueurs génétiques et le phénotype diffèrent simplement entre des sous-populations en raison de la parenté et ou de la structuration de la population. Plusieurs méthodes statistiques sont aussi disponibles : modèle à locus unique et modèle à locus multiples.

Le modèle à locus unique est le plus simple et effectue une évaluation de chaque marqueur séparément des autres pour sa contribution au phénotype. La méthode locus unique (ou « single locus GWAS ») repose sur un modèle linéaire d'association d'un seul locus à un seul phénotype de type « modèle général linéaire » (General Linear Model : GLM) ou « modèle mixte linéaire » (Mixed Linear Model : MLM). Le modèle GLM prend en compte la matrice Q par exemple les composantes principales d'un ACP, et le modèle MLM prend en compte la matrice Q et la matrice K. Des modèles plus évolués permettant de résoudre les limitations liées à la puissance statistique et les besoins en informatique (vitesse d'exécution) ont été développés. Par exemple, le modèle SUPER (« Settlement of MLM Under Progressively Exclusive Relationship ») permet de contrôler les grandes matrices de génotypage en regroupant les individus en groupe (« bin ») définis selon la matrice de parenté K. Les méthodes à modèle de locus unique présentent toutefois des limites liées à la résolution des effets potentiels causés par de multiples tests statistiques (Wen et al., 2018) où des corrections multiples sont à

envisager (correction de Bonferroni très stringentes qui peut exclure des loci importants surtout lorsque que l'erreur expérimentale est importante) et sur l'étude des interactions entre les variants (pléiotropie) puisqu'un seul marqueur est testé à la fois.

Afin de résoudre les limites du modèle présenté précédemment et prendre en compte la probable structure polygénique des caractères complexes, des modèles à locus multiples ont été mis en place (Zhang et al., 2019). Ces méthodes multi locus comme FarmCPU (« the fixed and random model circulating probability unification ») et BLINK (« Bayesian information and linkage-disequilibrium iteratively nested keyway ») sont développées pour contrôler l'erreur de type I et de type II en utilisant d'abord un modèle à effets fixes linéaire (comme ceux utilisés pour les modèles à locus unique) en prenant en compte la matrice Q et K. Puis un test (modèle à effets aléatoires) de tous ces marqueurs associés est réalisé avec une nouvelle matrice K dérivée des pseudo-QTN obtenus précédemment pour détecter les vrais nucléotides à caractères quantitatif (QTN). Afin d'éviter les surajustements du modèle, les pseudos-QTN ont été estimés par la méthode du maximum de vraisemblance dans le modèle à effet aléatoire (seule la variance génétique associée au marqueur par le biais du phénotype et la variance résiduelle sont à estimer) (X. Liu et al., 2016). La méthode BLINK développée en s'inspirant de la méthode Farm-CPU, avec néanmoins deux changements majeurs. Le premier changement consiste en l'élimination de l'hypothèse selon laquelle les marqueurs sont répartis uniformément sur le génome comme le suppose Farm-CPU. Les marqueurs qui sont en déséquilibre de liaison avec les marqueurs les plus significatifs sont exclus. Le second changement consiste en l'utilisation du critère informationnel bayésien (BIC) pour comparer les modèles à effets fixes entre eux permettant d'approximer le maximum de vraisemblance du modèle aléatoire et de sélectionner les marqueurs associés significativement (Huang et al., 2019; Wang and Zhang, 2021). Cette méthode diminue considérablement le temps de calcul et augmente la puissance statistique : les auteurs ajoutent que des données comprenant un million d'individus et un million de marqueurs peuvent être résolus en quelques heures.

J'ai choisi de me concentrer sur un outil en particulier disponible sur le logiciel R : BLINK du package GAPIT. C'est une méthode qui a déjà été employée dans plusieurs recherches, notamment avec des caractères complexes. Notamment, chez *Larimichthys crocea*, un poisson économiquement important élevé dans le sud-est des côtes chinoises, où les bases génétiques de la tolérance à l'hypoxie ont été recherchées. Avec 398 individus et 54224 SNPs, les auteurs ont identifié putativement 10 SNPs impliqués dans 2 caractères liés à l'hypoxie, incluant un gène (*egln2*) directement associé avec l'hypoxie en agissant comme un récepteur à l'oxygène

(Ding et al., 2022). Chez le blé, des régions génomiques ont été associées à la résistance aux lésions racinaires causées par le nématode *Pratylenchus thornei*, basé sur 143 individus et 7491 SNP. Les auteurs ont utilisé GAPIT comme outil de GWAS et réalisé plusieurs modèles dont Farm-CPU et BLINK. Les auteurs ont détecté 25 SNPs dont 6 avec BLINK et 7 avec Farm-CPU ayant 2 SNPs en commun dont l'un est putativement associé à la résistance au nématode (Kumar et al., 2021). Une étude d'association génomique des caractères liés au rendement du soja a été menée, basée sur 250 individus et 10259 SNPs. En utilisant le modèle BLINK et Farm-CPU, les auteurs ont retrouvé 20, 31, 37, et 23 SNPs associés respectivement à la maturité de la plante, la taille de la plante, la masse de la graine au rendement (Ravelombola et al., 2021).

#### 4. Compléments d'analyse

Une partie des travaux présentés ici a été réalisée par Nils Hocquemiller et moi-même dans le cadre d'un stage de master 2 réalisé au cours de l'année scolaire 2022-2023. Dans le même axe d'étude que l'article, ce travail apporte des réponses sur la plasticité phénotypique et le potentiel adaptatif de *F. graminearum* en conditions changeantes de concentration de la source azotée du milieu. Les caractères étudiés et les procédures d'analyses sont similaires à celles employées dans l'article avec comme milieu le MS+saccharose contenant une concentration en azote modifiée. Les concentrations de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (élément contenant l'azote du milieu) à raison de 1.5mM et 15mM ont été utilisées ici pour définir l'environnement E4.

Dans une seconde partie, nous nous intéresserons aux signaux de chromatographie issus de la sortie HPLC. En effet, ceux-ci montrent des signaux récurrents entre les souches qui ne semblent pas être des TCTB en première lecture. Ces données illustrent l'intérêt d'étudier des métabolites (primaires ou secondaires) autres que les mycotoxines (TCTB) chez *F. graminearum*.

##### a) Etude de la variabilité du phénotype chez 103 souches de *F. graminearum* selon la concentration en azote minéral

L'analyse de la variabilité phénotypique entre les différentes souches de *F. graminearum* est présentée en Figure 13. Une diminution globale de la valeur phénotypique pour l'ensemble des caractères est observée en condition traitée par rapport à la condition témoin. Par exemple, la production de TCTB diminue, en moyenne $\pm$ sd, passant de  $594.55\pm 437.68$   $\mu\text{g/ml}$  en condition



témoin à  $42.89 \pm 98.53$   $\mu\text{g/ml}$  en condition traitée. Une augmentation de la production de la biomasse fongique est observée passant de  $34.39 \pm 9.93$  mg en condition témoin à  $53.76 \pm 19.47$  mg en condition traitée (tableau 2).

La distribution des valeurs phénotypiques est aussi très variable entre les conditions et les phénotypes, comme le suggère le coefficient de variation. La dispersion des valeurs pour le phénotype toxine en condition témoin varie de 0.29 à 0.74 alors que pour la condition traitée, la gamme de distribution des valeurs s'étend de 0.36 à 3.33. Pour le phénotype croissance la distribution des valeurs restent stable entre les deux conditions : de 0.19 à 0.51 pour la condition témoin et de 0.18 à 0.47 pour la condition traitée.

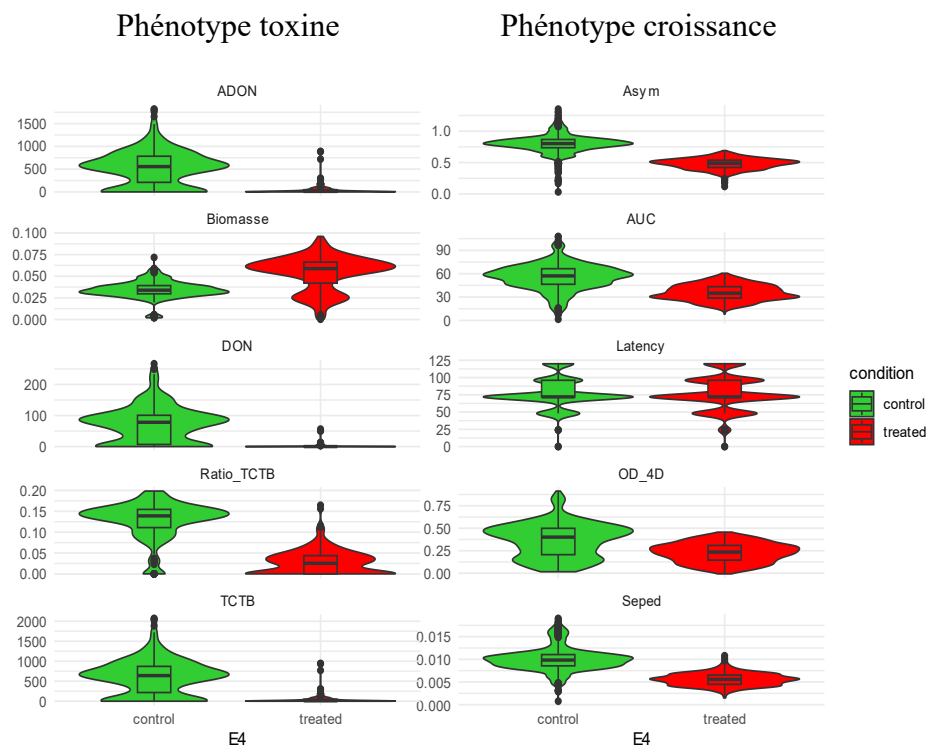


Figure 13 : Diagramme en violon avec les boîtes à moustaches montrant la distribution complète des données pour chaque caractère et chaque condition pour l'environnement concentration en azote (E4).

Les analyses statistiques des facteurs génotype et condition ont montré un effet significatif ( $p < 0,05$ , tableau supplémentaire 1) sur la variabilité phénotypique. La part de variance expliquée par le génotype pour le phénotype toxine est compris entre 0,1 et 0,57 et pour le phénotype croissance entre 0,13 et 0,63. Quant au facteur condition, la part de variance expliquée pour le phénotype toxine est compris entre 0,24 et 0,71 et pour le phénotype croissance entre 0,19 et 0,72. Ensuite, nous avons examiné la contribution relative de

l'interaction GxC, donc de la plasticité phénotypique, dans notre population (Figure 14). Nous avons estimé la valeur de plasticité phénotypique dans la population à partir des indices de normes de réaction et de coefficient de plasticité (Tableau 3). La Figure des normes de réaction et des densités de distribution se trouve en Figure supplémentaire 1 à la fin de ce chapitre. Les distributions des valeurs de plasticité phénotypique (normes de réaction et coefficient de plasticité), sont reflétées par le coefficient de variation. Par exemple, nous remarquons une distribution bimodale pour TCTBp, ADONp, DONp, Biomassep et OD\_4Dp et une distribution unimodale pour les autres caractères. Le coefficient de variation s'étend de -1.2 à 0.88 pour les deux phénotypes (toxine et cinétique) avec une exception pour le caractères LATENCYp dont le CV est de 29.59. Enfin, la contribution relative de l'interaction GxC expliquant le phénotype est variable entre les phénotypes et plus important pour le phénotype toxine que pour le phénotype croissance (de 0,14 à 0,35 pour le phénotype toxine et de 0,06 à 0,09 pour le phénotype croissance).

Tableau 2 : Statistiques descriptives liées aux performances phénotypiques des 103 souches de *F. graminearum* utilisées dans la présente étude, pour les 10 caractères mesurés dans les deux conditions de l'environnement E4.

| <i>Phénotype</i>  | <i>Condition</i> | <i>Variable</i> | <i>Biomasse</i> | <i>DON</i>   | <i>ADON</i>   | <i>TCTB</i>    | <i>Ratio_TCTB</i> |
|-------------------|------------------|-----------------|-----------------|--------------|---------------|----------------|-------------------|
| <i>Toxine</i>     | Contrôle         | mean±sd         | 34.39±9.93      | 71.43±56.88  | 523.12±383.28 | 594.55±437.68  | 0.13±0.04         |
|                   |                  | Min-Max         | 2-71.7          | 0-266.81     | 0-1819.19     | 0-2072.13      | 0-0.2             |
|                   |                  | CV              | 0.29            | 0.8          | 0.73          | 0.74           | 0.35              |
|                   |                  | n               | 103             | 103          | 103           | 103            | 85                |
|                   | Traitée          | mean±sd         | 53.76±19.47     | 1.65±5.49    | 41.24±93.28   | 42.89±98.53    | 0.03±0.03         |
|                   |                  | Min-Max         | 0.3-96          | 0-56.3       | 0-889.53      | 0-945.82       | 0-0.16            |
|                   |                  | CV              | 0.36            | 3.33         | 2.26          | 2.3            | 1.07              |
|                   |                  | n               | 103             | 103          | 103           | 103            | 72                |
| <i>Croissance</i> | Contrôle         |                 | <i>AUC</i>      | <i>OD_4D</i> | <i>ASYM</i>   | <i>LATENCY</i> | <i>SPEED</i>      |
|                   |                  | mean±sd         | 55.94±16.61     | 0.37±0.19    | 0.8±0.15      | 77.53±21.07    | 0.01±0            |
|                   |                  | Min-Max         | 1.51-107.91     | 0.02-0.91    | 0.03-1.35     | 0-120          | 0-0.02            |
|                   |                  | CV              | 0.3             | 0.51         | 0.19          | 0.27           | 0.26              |
|                   | Traitée          | mean±sd         | 35.63±9.99      | 0.23±0.11    | 0.48±0.08     | 76.81±24.15    | 0.01±0            |
|                   |                  | Min-Max         | 8.04-60.59      | -0.47        | 0.12-0.69     | 0-120          | 0-0.01            |
|                   |                  | CV              | 0.28            | 0.47         | 0.18          | 0.31           | 0.25              |
|                   |                  | n               | 79              | 79           | 79            | 79             | 79                |

Pour aller plus loin, une autre analyse de l'implication du facteur génotype dans la plasticité phénotypique a été réalisé. Cette analyse de variance démontre significativement ( $p < 0,05$ , tableau supplémentaire 1) que les valeurs des normes de réaction et du coefficient de plasticité

sont différentes entre les génotypes. De plus, la mesure de la proportion de variance expliquée par le génotype pour chaque caractère plastique est différente entre les phénotypes (de 0,87 à 0,99 pour le phénotype toxine et de 0,34 à 0,7 pour le phénotype croissance).

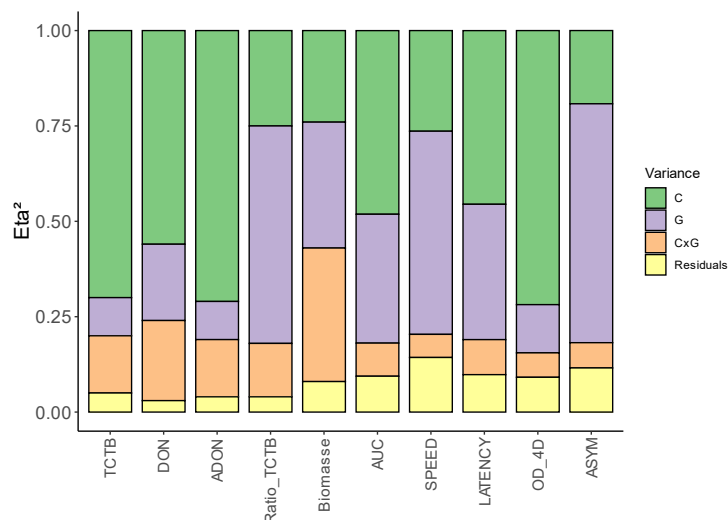


Figure 14 : Proportion de variance ( $\eta^2$  « éta au carré ») expliquée par chaque composante de la variance phénotypique : Condition (Contrôle ou traitée), Génotype, leur interaction CxG et la variance résiduelle, pour chaque caractère dans l'environnement E4.

Tableau 3 : Statistiques descriptives liées à la plasticité phénotypique des 103 souches de *F. graminearum* utilisées dans la présente étude, pour les 10 caractères mesurés dans les deux conditions de l'environnement E4.

| Plasticité                | Phénotype | Paramètre | Biomasse <sub>p</sub>          | DON <sub>p</sub>            | ADON <sub>p</sub>          | TCTB <sub>p</sub>             | Ratio <sub>p</sub>          |
|---------------------------|-----------|-----------|--------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
|                           |           |           | mean±sd                        | -1.43±1.71                  | 5.17±4.22                  | 35.7±27.89                    | 40.86±31.95                 |
| Norme de réaction         | Toxine    | Min-Max   | -5.58-3.84                     | -0.46-19.76                 | -19.82-131.24              | -20.28-149.97                 | 0-0.01                      |
|                           |           | CV        | -1.2                           | 0.82                        | 0.78                       | 0.78                          | 0.46                        |
|                           |           | n         | 103                            | 103                         | 103                        | 103                           | 69                          |
|                           |           |           | <b>AUC<sub>p</sub></b>         | <b>OD_4D<sub>p</sub></b>    | <b>ASYM<sub>p</sub></b>    | <b>LATENCY<sub>p</sub></b>    | <b>SPEED<sub>p</sub></b>    |
|                           | Cinétique | mean±sd   | 1.5±0.93                       | 0.01±0.01                   | 0.02±0.01                  | 0.05±1.57                     | 0±0                         |
|                           |           | Min-Max   | -2.39-4.58                     | -0.01-0.04                  | -0.03-0.07                 | -8.89-5.33                    | 0-0                         |
|                           |           | CV        | 0.62                           | 0.88                        | 0.45                       | 29.59                         | 0.51                        |
|                           |           | n         | 79                             | 79                          | 79                         | 79                            | 79                          |
| Coefficient de plasticité | Toxine    |           | <b>Biomasse<sub>coef</sub></b> | <b>DON<sub>coef</sub></b>   | <b>ADON<sub>coef</sub></b> | <b>TCTB<sub>coef</sub></b>    | <b>Ratio<sub>coef</sub></b> |
|                           |           | mean±sd   | -1.11±3.35                     | 0.97±0.12                   | 0.91±0.17                  | 0.92±0.16                     | 0.76±0.28                   |
|                           |           | Min-Max   | -27.95-0.99                    | -0.13-1                     | -0.43-1                    | -0.41-1                       | -0.63-1                     |
|                           |           | CV        | -3.02                          | 0.12                        | 0.19                       | 0.18                          | 0.36                        |
|                           | Cinétique | n         | 103                            | 80                          | 85                         | 85                            | 69                          |
|                           |           |           | <b>AUC<sub>coef</sub></b>      | <b>OD_4D<sub>coef</sub></b> | <b>ASYM<sub>coef</sub></b> | <b>LATENCY<sub>coef</sub></b> | <b>SPEED<sub>coef</sub></b> |
|                           |           | mean±sd   | 0.31±0.43                      | 0.26±0.52                   | 0.37±0.43                  | -0.01±0.29                    | 0.42±0.31                   |
|                           |           | Min-Max   | -9.27-0.72                     | -7.29-1.09                  | -10.43-0.82                | -2-1                          | -6.7-0.86                   |
|                           |           | CV        | 1.38                           | 1.98                        | 1.18                       | -46.38                        | 0.75                        |
|                           |           | n         | 79                             | 79                          | 79                         | 79                            | 79                          |

Afin d'explorer le comportement des souches en termes de valeur de plasticité, nous avons rangé les souches selon leurs coefficients de plasticité. Nous avons donc des souches dont le phénotype est plus plastique et des souches où le phénotype est moins plastique. La Figure 15 nous présente ce classement pour le phénotype toxine et pour le phénotype croissance. On peut remarquer que parmi les 10 souches présentant une valeur de plasticité importante que la souche INRA173 est la 3<sup>ème</sup> souche dans les deux phénotypes. La souche FU18001 est classée 5<sup>ème</sup> et 8<sup>ème</sup> et la souche INRA150 est classée 10<sup>ème</sup> et 1<sup>ère</sup> pour les phénotypes toxine et croissance respectivement. Il n'y a pas de classement particulier pour les souches dont la valeur de plasticité est la plus faible ici. La variabilité de la plasticité phénotypique entre les deux phénotypes a été exploitée grâce à une corrélation de Spearman basée sur les rangs et décrite en Figure 16. Une très faible corrélation négative (-0.06) et non significative ( $p=0.66$ ). On peut remarquer que les 2 souches INRA 173, INRA150 et FU18001 se retrouvent dans la zone (ou très proche) du 90<sup>ème</sup> quantile (en bleu sur la Figure 16).

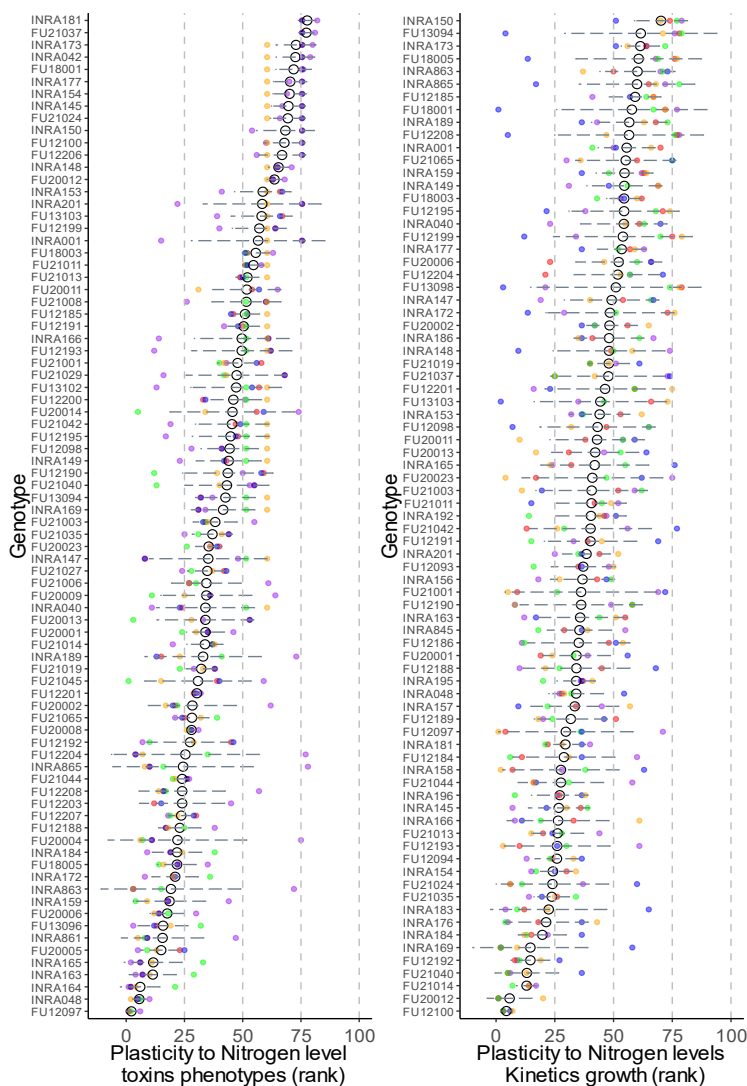


Figure 15 : Classement des individus selon le rang moyen des génotypes pour les variables de plasticité phénotypique calculées pour le phénotype toxine (Violet : Biomasse, Rouge : TCTB, Vert : Ratio, Bleu : ADON, Orange : DON) et le phénotype cinétique (Violet : VITESSE, Rouge : AUC, Vert : ASYM, Bleu : Latence, Orange : OD\_4D). Les classements ont été calculés lorsqu'il y a, au moins, 3 valeurs. Un rang le plus élevé signifie un niveau de plasticité phénotypique le plus élevé.

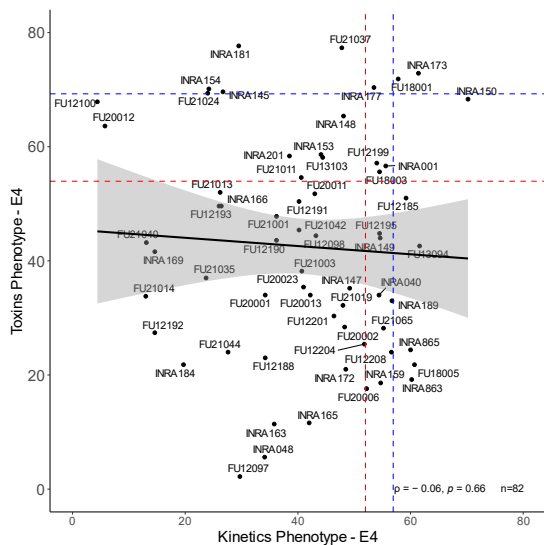


Figure 16 : Corrélation des rangs du niveau de plasticité phénotypique. Les lignes pointillées rouges et bleues représentent respectivement les 75e et 90e quantiles. Le ruban gris représente l'intervalle de confiance (IC) à 95%.

A ce stade de l'analyse de la plasticité phénotypique dans cet environnement où la concentration en azote est modifiée, nous avons démontré qu'il existe de la variation génétique de la plasticité phénotypique entre les individus de génotypes différents. Afin de découvrir l'architecture génétique de cette variation, nous avons réalisé un GWAS sur les caractères associés à la plasticité phénotypique. Nous avons repris les données génétiques (SNPs) de la partie article ainsi que le même modèle. Nous avons retrouvé 17 SNPs associés à un des caractères (variable brute ou relative à la plasticité phénotypique). Sur les 17 SNPs, 11 SNPs passent le filtre de la MAF (0.05), 7 sont des SNPs associés à un caractère de plasticité et seulement 3 passent le critère de la PVE (>10%). Ces trois SNPs appartiennent au phénotype toxine et sont associés au coefficient de plasticité de caractères ADON, DON et Biomasse. Ces SNPs sont résumés dans le tableau 4.

Nous retrouvons un variant synonyme (HG970335\_4310202) associé au coefficient de plasticité du DON et deux variants retrouvés en amont de d'une région codante dont l'une est hypothétique et l'autre code une enzyme benzoate carboxyl méthyltransférase. Cette enzyme n'a pas été décrite fonctionnellement chez *F. graminearum*. Un alignement de séquence a permis de retrouver l'annotation putative du gène associé au SNP HG970335\_4310202 par homologie. Avec 100% d'identité ( $E\_value = 2E-174$ ), ce gène homologue à un gène annoté comme codant une protéine à domaine en leucine zipper induisant la dimérisation puis l'interaction spécifique avec l'ADN (bZIP Yap, yeast activator protein, GenBank: ESU14024.1). Chez *S. cerevisiae*, 8 protéines de la famille des b-ZIP de la même famille des trans-régulateurs ont été caractérisées et décrites comme étant impliquées dans diverse formes de réponse au stress. Notamment, le rôle de Yap1p et Yap2p a été démontré dans la régulation

des enzymes qui protègent contre le stress oxydatif provoqué par du peroxyde d'hydrogène et aussi par des métaux lourds. Yap4p et Yap6p sont impliqués dans la réponse au stress osmotique en aval de la voie HOG (Rodrigues-Pousada et al., 2019, 2004).

Tableau 4 : Liste des SNP significativement associés aux caractères liés à la plasticité. 'Chromosome' fait référence au nom du chromosome sur le génome de référence pH1 VGCA\_900044135.1 (King et al. 2015), 'Position' est la position du SNP sur le chromosome, 'REF' est l'allèle de référence, 'ALT' est l'allèle alternatif, 'n' est le nombre d'individus génotypés, 'Allèle 1' et 'Allèle 2' sont la fréquence de chaque allèle, 'PVE%' est le pourcentage de variation phénotypique expliqué, 'SNP annotation' est l'effet de substitution allélique selon l'analyse SNPEff, 'Gene ID' sont le nom du gène putativement impacté, 'Description du produit' est la description du produit génique selon l'annotation du génome pH1 VGCA\_900044135.1 publiée le 16/03/2021 (King et al. 2017).

| Chromosome | Position | P.value  | Caractère     | REF | ALT | Allèle 1 | Allèle 2 | PVE%  |
|------------|----------|----------|---------------|-----|-----|----------|----------|-------|
| HG970333   | 4438805  | 2.57E-07 | ADON_coef     | A   | C   | 0.94     | 0.06     | 16.24 |
| HG970335   | 4310202  | 1.07E-27 | DON_coef      | G   | C   | 0.949    | 0.051    | 45.92 |
| HG970335   | 4405122  | 5.20E-07 | Biomasse_coef | G   | A   | 0.91     | 0.09     | 46.56 |

| Chromosome | Position | SNP annotation                    | Gene ID           | Description du produit                 |
|------------|----------|-----------------------------------|-------------------|--|
| HG970333   | 4438805  | upstream variant                  | FGRAMPH1_01G12239 | hypothetical protein                   |
| HG970335   | 4310202  | synonymous variant<br>p.Val192Val | FGRAMPH1_01G25499 | hypothetical protein                   |
| HG970335   | 4405122  | upstream variant                  | FGRAMPH1_01G25575 | Benzoate carboxyl<br>methyltransferase |

## b) Occurrence de signaux métaboliques sur les chromatogrammes d'HPLC.

Lors du retraitement des données d'HPLC, des signaux récurrents ont été détectés, de surface variable entre les génotypes et les différents environnements. L'objectif est de déterminer si ces signaux peuvent être appréhendés comme des caractères quantitatifs possédant de la variabilité génotypique. C'est une prospection liminaire à l'étude de la plasticité métabolomique de *F. graminearum*. Le matériel et méthodes restant inchangés, dans cette partie, nous présenterons succinctement ces résultats en se focalisant sur l'apport dans l'étude de la plasticité phénotypique. Seuls les environnements température (E1) et oxydatifs (E2) seront examinés.

Deux signaux ont été identifiés, l'un avant le temps de rétention du DON (vers 3,444 minutes) et l'autre entre le temps de rétention du DON et celui du 15-ADON (vers 5,333 minutes). Aucun autre signal correspondant aux spectres n'a été retrouvé. Les noms des variables sont nommés d'après leur temps de rétention (Figure 17). Le spectre en Figure 17A possède un épaulement majeur vers 220nm et deux épaulements mineurs vers 250nm et vers 300nm. Le spectre de la Figure 17C montre un épaulement majeur vers 210nm et deux épaulements mineurs vers 250nm et vers 300nm. Le spectre montré en Figure 17B est quant à lui caractéristique de l'absorption des TCTB avec un seul épaulement vers 220nm.

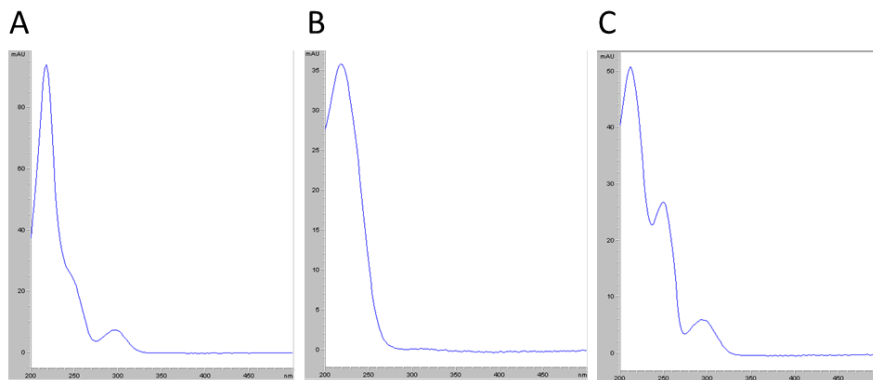


Figure 17 : Spectres DAD issus des différents signaux d'un chromatogramme classés par temps de rétention, présentant l'absorbance du pic de chromatographie en fonction de la longueur d'onde. (A) signal Unk\_3444, (B) signal d'une molécule de TCTB (DON ou ADON) dont ici seul le temps de rétention permet de séparer ces deux molécules. Ce spectre ayant un pic à 220nm est caractéristique des TCTB. (C) signal Unk\_5333.

L'analyse de la variabilité phénotypique entre les différentes souches de *F. graminearum* est présentée en Figure 18 (A et B) et en tableau supplémentaire 4. On observe une augmentation globale de la production de ces signaux métaboliques en condition traitée par rapport à la condition témoin. Par exemple, le signal Unk\_3444 dans l'environnement E1, en moyenne $\pm$ sd,

passe de  $22.06 \pm 47.99$  mAU en condition témoin à  $43.35 \pm 63.17$  mAU en condition traité. On remarque que seul le signal Unk\_5333 pour l'environnement E1 diminue en production, passant de  $233.57 \pm 250.36$  mAU à  $324.62 \pm 395.11$  mAU (Figure 18A et B). Les analyses statistiques des facteurs génotype et condition ont montré un effet significatif ( $p < 0,05$ , tableau supplémentaire 3) sur la variabilité des deux signaux. La part de variance expliquée (Figure 18C) par le génotype pour l'environnement E1 et E2 est élevée (Unk\_3444/Unk\_5333) : 0.64/0.77 et 0.83/0.91 respectivement de l'environnement. La part de variance expliquée par le facteur condition, quant à elle, est faible allant de 0.003 à 0.05 quels que soit le signal et l'environnement regardé.

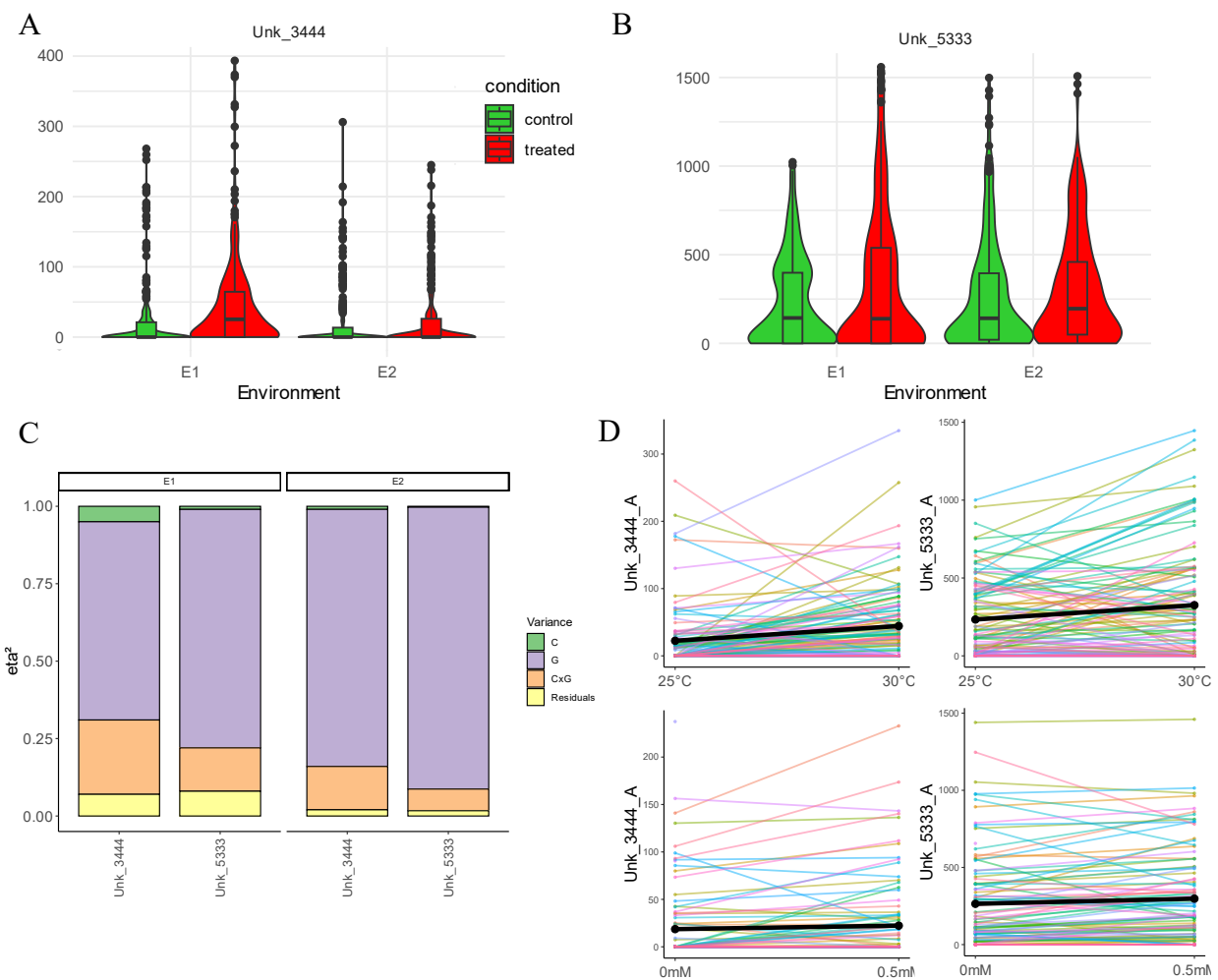


Figure 18 : Diagramme en violon avec les boîtes à moustaches montrant la distribution complète des données des signaux Unk\_3444 (A) et Unk\_5333 (B), dans chaque condition des environnements E1 et E2. (C) Proportion de variance ( $\eta^2$  « éta au carré ») expliquée par chaque composante de la variance phénotypique : Condition (Contrôle ou traitée), Génotype, leur interaction CxG et la variance résiduelle, pour les deux caractères dans les deux environnements. Les normes de réaction (D) pour tous les caractères avec la moyenne représentée par la ligne noire épaisse.



Ensuite, nous avons examiné la contribution relative de l'interaction GxC, donc de la plasticité phénotypique. La variance expliquée par le GxC est aussi significative ( $p < 0.05$ ) et est plus élevée pour E1 (Unk\_3444/Unk\_5333 : 0.24/0.14) que pour E2 (Unk\_3444/Unk\_5333 : 0.14/0.07) (Figure 18C).

La variable de plasticité phénotypique a été calculée ici par la norme de réaction et montre des différences entre dans la moyenne pour les deux signaux métaboliques entre E1 et E2. Le coefficient de variation semble montrer que la dispersion des valeurs de plasticité phénotypique est plus importante pour Unk\_3444 entre E1 et E2 (2.97/ 3.53) que pour Unk\_5333 (-3.39/ -3.64) (table supplémentaire 4). Ensuite, l'analyse de l'implication du facteur génotype dans la plasticité phénotypique a été obtenue et démontre que ce facteur est significativement impliqué ( $p < 0,05$ ) dans la variation de la plasticité phénotypique (tableau supplémentaire 5). Nous pouvons remarquer que la mesure de la proportion de variance expliquée par le génotype pour Unk\_3444 est plus faible (E1 : 0.75/ E2 : 0.72) que pour Unk\_5333 (E1 : 0.86/ E2 : 0.86).

Afin d'aller plus loin dans le détail de l'implication génétique de la production de ces métabolites, un GWAS est réalisé uniquement sur les caractères de production. Les résultats sont présentés en tableau 5. Cinq SNPs sont retrouvés associés avec les deux caractères Unk\_3444 et Unk\_5333 et possède une  $MAF > 7\%$  et une  $PVE > 24.7\%$ . Un SNP (HG970333\_8920980) est retrouvé dans la condition traitée et dans la condition témoin du caractère Unk\_5333 de E2, modifiant un acide aminé (pro>leu) du gène FGRAMPH1\_01G16019. Un autre SNP (HG970335\_7896630) est retrouvé dans la condition traitée du caractère Unk\_3444 de E2, modifiant un acide aminé (Ala>Thr) du gène FGRAMPH1\_01G28185. Les 2 autres SNPs sont situés en région intergénique ayant un potentiel impact sur des gènes situés en amont.

Ces analyses démontrent une implication probable du génome dans l'expression des signaux métaboliques observés. Il serait intéressant de réaliser une analyse similaire sur la plasticité phénotypique pouvant démontrer l'architecture génétique sous-jacente. Aussi, l'identification putative des signaux métabolique serait un apport supplémentaire dans la compréhension de ces molécules impactées par les environnements, dans le déterminisme de production de ces métabolites afin de les attacher au métabolisme primaire ou secondaire.

Tableau 5 : Liste des SNP significativement associés aux caractères liés à la plasticité. ‘Chromosome’ fait référence au nom du chromosome sur le génome de référence pH1 VGCA\_900044135.1 (King et al. 2015), ‘Pos’ est la position du SNP sur le chromosome, ‘E’ est l’environnement, ‘REF’ est l’allèle de référence, ‘ALT’ est l’allèle alternatif, ‘n’ est le nombre d’individus génotypés, ‘Allèle 1’ et ‘Allèle 2’ sont la fréquence de chaque allèle, ‘PVE%’ est le pourcentage de variation phénotypique expliqué, ‘SNP annotation’ est l’effet de substitution allélique selon l’analyse SNPEff, ‘Gene ID’ sont le nom du gène putativement impacté, ‘Description du produit’ est la description du produit génique selon l’annotation du génome pH1 VGCA\_900044135.1 publiée le 16/03/2021 (King et al. 2017).

| Chromosome | Pos     | E  | Condition | Caractère | P.value  | REF | ALT | Allèle 1 | Allèle 2 | PVE% |
|------------|---------|----|-----------|-----------|----------|-----|-----|----------|----------|------|
| HG970332   | 5872519 | E2 | Traitée   | Unk_3444  | 2.49E-09 | A   | G   | 0.92     | 0.08     | 37.3 |
| HG970335   | 7896630 | E2 |           |           | 3.47E-10 | C   | T   | 0.93     | 0.07     | 24.7 |
|            | 4452608 | E1 |           |           | 1.73E-07 | T   | C   | 0.89     | 0.11     | 49.2 |
| HG970333   | 8920980 | E2 | Contrôle  | Unk_5333  | 2.10E-09 | G   | A   | 0.47     | 0.52     | 34   |
|            | 8920980 | E2 |           |           | 9.07E-10 | G   | A   | 0.47     | 0.52     | 33.7 |

| Chr      | Pos     | SNP Annotation                  | Gene ID           | Description du produit           |
|----------|---------|---------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| HG970332 | 5872519 | upstream variant                | FGRAMPH1_01G04329 | organic hydroperoxide resistance |
| HG970333 | 4452608 | upstream variant                | FGRAMPH1_01G12251 | hypothetical protein             |
| HG970333 | 8920980 | missense variant<br>p.Pro161Leu | FGRAMPH1_01G16019 | hypothetical protein             |
| HG970333 | 8920980 | missense variant<br>p.Pro161Leu | FGRAMPH1_01G16019 | hypothetical protein             |
| HG970335 | 7896630 | missense variant<br>p.Ala8Thr   | FGRAMPH1_01G28185 | unnamed protein product          |

## 5. Conclusion :

Les résultats clés de ce chapitre 1 visant à caractériser la plasticité phénotypique et son déterminisme génétique chez *Fusarium graminearum* sont :

- Les 103 souches de *F. graminearum* exploitées ici montrent des caractéristiques phénotypiques uniques.
- Les différents environnements (abiotique E1/ E2/ E3/ E4) influencent différemment la plasticité phénotypique observée par la norme de réaction et/ou le coefficient de plasticité.
- Le génotype possède une part significative dans l'expression de la plasticité phénotypique et dans la variation de ce caractère.
- La méthode de GWAS nous a permis de retrouver des SNPs associés à la plasticité phénotypique. Sous-jacent à ce résultat, nous retrouvons des gènes tels que les intégral membrane (PTH11) ou les gènes possédant des répétitions ankyrine dans leur produit que nous avons associés à la plasticité phénotypique.
- *F. graminearum* produit des métabolites (primaires ou secondaires) identifiables par HPLC montrant des variations de production entre condition et environnement (E1 et E2) donc de la plasticité phénotypique. L'analyse du déterminisme génétique par GWAS de ces molécules reste putatif mais impacte (pour 3 SNPs sur 5) la séquence en acides aminés des protéines prédites.

L'ensemble des observations de ce premier chapitre est un pas en avant vers la caractérisation plus fine de la plasticité phénotypique chez les champignons et particulièrement *F. graminearum*. C'est aussi une démonstration du potentiel adaptatif de ce champignon face à divers environnements.

## 6. Figures et tables supplémentaires

Tableau supplémentaire 1 : Analyse de variance du modèle 1 (voir article) comprenant dans le tableau (A) la valeur de lambda pour le coefficient BoxCox, Df pour les degrés de liberté des différents facteurs : Génotype (G), Condition (C) et effets d'interaction CxG. Shapiro Wilk teste pValue (Shapiro\_pval) et Levene teste la pvalue (Levene\_pval) des résidus pour la normalité et l'homogénéité de la variance respectivement, le R carré ajusté par rapport aux facteurs du modèle (R<sup>2</sup>-ajusté). Le tableau (B) présente les valeurs de moyenne des carrés, de sommes des carrés, de la valeur statistique F et de la valeur p pour les des différents facteurs et les résidus (R).

| <b>A</b> Variable | Lambda | Df - C | Df - G | Df - CxG | Shapiro_pval | Levene_pval | R <sup>2</sup> -ajusté | Choix du modèle |
|-------------------|--------|--------|--------|----------|--------------|-------------|------------------------|-----------------|
| Biomasse          | 2      | 1      | 102    | 102      | 1.68E-31     | 8.94E-02    | 0.87                   | modèle trans    |
| TCTB              | 0.06   | 1      | 102    | 102      | 4.11E-42     | 5.38E-01    | 0.93                   | modèle trans    |
| ADON              | 0.07   | 1      | 102    | 102      | 4.85E-42     | 5.32E-01    | 0.93                   | modèle trans    |
| DON               | 0.05   | 1      | 102    | 102      | 1.63E-43     | 4.63E-01    | 0.95                   | modèle trans    |
| Ratio_TCTB        | 0.62   | 1      | 87     | 68       | 1.41E-33     | 1.79E-02    | 0.93                   | modèle trans    |
| SPEED             | -0.11  | 1      | 78     | 78       | 1.91E-41     | 2.35E-32    | 0.87                   | modèle trans    |
| ASYM              | 0.65   | 1      | 78     | 78       | 4.01E-37     | 1.09E-29    | 0.87                   | modèle trans    |
| AUC               | 0.6    | 1      | 78     | 78       | 3.47E-32     | 5.00E-29    | 0.89                   | modèle trans    |
| OD_4D             | 0.42   | 1      | 78     | 78       | 2.91E-29     | 1.95E-42    | 0.89                   | modèle trans    |
| LATENCY           | 1.5    | 1      | 78     | 78       | 8.58E-33     | 1.01E-12    | 0.89                   | modèle normal   |

| <b>B</b> Variable | Mean squared |          |          |          | Sum squared |          |          |          | F value  |          |          | Pr(>F)    |           |           |
|-------------------|--------------|----------|----------|----------|-------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|
|                   | C            | G        | CxG      | R        | C           | G        | CxG      | R        | C        | G        | CxG      | C         | G         | CxG       |
| Biomasse          | 1.52E+08     | 1.08E+06 | 1.56E+06 | 9.27E+04 | 1.52E+08    | 1.10E+08 | 1.59E+08 | 3.82E+07 | 1.64E+03 | 1.16E+01 | 1.68E+01 | 6.16E-146 | 1.21E-74  | 1.46E-98  |
| TCTB              | 5.58E+03     | 4.04E+02 | 8.32E+01 | 6.43E+00 | 5.58E+03    | 4.12E+04 | 8.48E+03 | 2.65E+03 | 8.68E+02 | 6.28E+01 | 1.29E+01 | 1.74E-103 | 1.91E-199 | 2.44E-81  |
| ADON              | 5.21E+03     | 3.60E+02 | 7.39E+01 | 5.61E+00 | 5.21E+03    | 3.68E+04 | 7.54E+03 | 2.31E+03 | 9.28E+02 | 6.42E+01 | 1.32E+01 | 1.35E-107 | 2.67E-201 | 1.70E-82  |
| DON               | 1.80E+04     | 4.82E+02 | 1.80E+02 | 7.03E+00 | 1.80E+04    | 4.92E+04 | 1.84E+04 | 2.89E+03 | 2.56E+03 | 6.87E+01 | 2.56E+01 | 8.19E-179 | 7.43E-207 | 1.45E-128 |
| Ratio_TCTB        | 9.91E+00     | 5.05E-02 | 3.34E-02 | 2.33E-03 | 9.91E+00    | 4.40E+00 | 2.27E+00 | 6.96E-01 | 4.26E+03 | 2.17E+01 | 1.43E+01 | 6.25E-179 | 9.67E-90  | 2.79E-62  |
| SPEED             | 4.18E+02     | 2.66E+00 | 6.10E-01 | 8.10E-02 | 4.18E+02    | 2.07E+02 | 4.76E+01 | 1.12E+02 | 5.16E+03 | 3.28E+01 | 7.53E+00 | 0.00E+00  | 4.67E-259 | 2.40E-63  |
| ASYM              | 5.32E+01     | 2.09E-01 | 7.21E-02 | 7.09E-03 | 5.32E+01    | 1.63E+01 | 5.63E+00 | 9.83E+00 | 7.51E+03 | 2.95E+01 | 1.02E+01 | 0.00E+00  | 1.30E-239 | 5.25E-90  |
| AUC               | 7.03E+03     | 1.28E+02 | 2.32E+01 | 1.41E+00 | 7.03E+03    | 1.00E+04 | 1.81E+03 | 1.96E+03 | 4.99E+03 | 9.11E+01 | 1.64E+01 | 0.00E+00  | 0.00E+00  | 2.93E-146 |
| OD_4D             | 2.57E+01     | 1.87E+00 | 1.67E-01 | 1.34E-02 | 2.57E+01    | 1.46E+02 | 1.30E+01 | 1.86E+01 | 1.92E+03 | 1.40E+02 | 1.25E+01 | 5.89E-264 | 0.00E+00  | 1.27E-111 |
| LATENCY           | 1.60E+05     | 2.62E+03 | 5.29E+02 | 3.18E+01 | 1.60E+05    | 2.05E+05 | 4.13E+04 | 4.41E+04 | 5.02E+03 | 8.26E+01 | 1.67E+01 | 0.00E+00  | 0.00E+00  | 4.34E-148 |

Tableau supplémentaire 2 : Statistiques descriptives liées aux performances phénotypiques des 103 souches de *F. graminearum* utilisées dans la présente étude, pour les deux signaux métaboliques (Unk\_3444 et Unk\_5333) dans les deux environnements (E1 et E2).

|                  |                 |                                | <i>Environnement</i> |               |               |               |
|------------------|-----------------|--------------------------------|----------------------|---------------|---------------|---------------|
|                  |                 |                                | <b>E1</b>            |               | <b>E2</b>     |               |
| <b>Phénotype</b> | <b>Variable</b> | <b>Statistique descriptive</b> | <b>C</b>             | <b>T</b>      | <b>C</b>      | <b>T</b>      |
| Métabolites      | Unk_3444        | mean±sd                        | 22.06±47.99          | 43.35±63.17   | 17.77±40.91   | 20.96±42.41   |
|                  |                 | Min-Max                        | 0-268.2              | 0-393.45      | 0-306.1       | 0-244.93      |
|                  |                 | CV                             | 2.18                 | 1.46          | 2.3           | 2.02          |
|                  |                 | <i>N</i>                       | 103                  | 103           | 99            | 96            |
|                  | Unk_5333        | mean±sd                        | 233.57±250.36        | 324.62±395.11 | 257.02±296.67 | 295.79±303.82 |
|                  |                 | Min-Max                        | 0-1022.7             | 0-1558.91     | 0-1498.02     | 0-1507.34     |
|                  |                 | CV                             | 1.07                 | 1.22          | 1.15          | 1.03          |
|                  |                 | <i>n</i>                       | 103                  | 103           | 99            | 96            |

Tableau supplémentaire 3 : Analyse de variance du modèle 1 (voir article) comprenant dans le tableau (A) la valeur de lambda pour le coefficient BoxCox, Df pour les degrés de liberté des différents facteurs : Génotype (G), Condition (C) et effets d'interaction CxG. Shapiro Wilk teste pValue (Shapiro\_pval) et Levene teste la pvalue (Levene\_pval) des résidus pour la normalité et l'homogénéité de la variance respectivement, le R carré ajusté par rapport aux facteurs du modèle (R<sup>2</sup>-ajusté). Le tableau (B) présente les valeurs de moyenne des carrés, de sommes des carrés, de la valeur statistique F et de la valeur p pour les des différents facteurs et les résidus (R).

| <b>A</b> | <b>Variable</b> | <b>Lambda</b> | <b>dfC</b> | <b>dfG</b> | <b>dfCG</b> | <b>Shapiro_pval</b> | <b>Levene_pval</b> | <b>R<sup>2</sup>_ajusté</b> | <b>modelChoose</b> |
|----------|-----------------|---------------|------------|------------|-------------|---------------------|--------------------|-----------------------------|--------------------|
| E1       | Unk_3444        | 0.1           | 1          | 102        | 102         | 3.43E-40            | 0.58               | 0.88                        | Modele_trans       |
|          | Unk_5333        | 0.08          | 1          | 102        | 102         | 1.02E-37            | 0.58               | 0.87                        | Modele_trans       |
| E2       | Unk_3444        | 0.1           | 1          | 98         | 95          | 7.53E-44            | 0.67               | 0.96                        | Modele_trans       |
|          | Unk_5333        | 0.05          | 1          | 98         | 95          | 2.84E-44            | 0.58               | 0.97                        | Modele_trans       |

| <b>B</b> | <b>Variable</b> | <i>Mean squared</i> |          |            |          | <i>Sum squared</i> |          |            |          |
|----------|-----------------|---------------------|----------|------------|----------|--------------------|----------|------------|----------|
|          |                 | <b>C</b>            | <b>G</b> | <b>CxG</b> | <b>R</b> | <b>C</b>           | <b>G</b> | <b>CxG</b> | <b>R</b> |
| E1       | Unk_3444        | 1.78E+03            | 2.04E+02 | 7.55E+01   | 5.93E+00 | 1.78E+03           | 2.08E+04 | 7.70E+03   | 2.44E+03 |
|          | Unk_5333        | 1.38E+02            | 3.48E+02 | 6.41E+01   | 9.37E+00 | 1.38E+02           | 3.55E+04 | 6.54E+03   | 3.86E+03 |
| E2       | Unk_3444        | 2.01E+02            | 2.30E+02 | 3.88E+01   | 1.71E+00 | 2.01E+02           | 2.26E+04 | 3.68E+03   | 6.61E+02 |
|          | Unk_5333        | 1.82E+02            | 6.52E+02 | 5.23E+01   | 3.88E+00 | 1.82E+02           | 6.39E+04 | 4.96E+03   | 1.50E+03 |

| <b>B</b> | <b>Variable</b> | <b>F value</b> |          |            | <b>Pr(&gt;F)</b> |           |            |
|----------|-----------------|----------------|----------|------------|------------------|-----------|------------|
|          |                 | <b>C</b>       | <b>G</b> | <b>CxG</b> | <b>C</b>         | <b>G</b>  | <b>CxG</b> |
| E1       | Unk_3444        | 3.00E+02       | 3.44E+01 | 1.27E+01   | 7.01E-51         | 5.48E-151 | 2.23E-80   |
|          | Unk_5333        | 1.47E+01       | 3.71E+01 | 6.84E+00   | 1.46E-04         | 6.52E-157 | 1.13E-45   |
| E2       | Unk_3444        | 1.17E+02       | 1.35E+02 | 2.27E+01   | 4.58E-24         | 1.09E-248 | 6.95E-112  |
|          | Unk_5333        | 4.68E+01       | 1.68E+02 | 1.35E+01   | 3.11E-11         | 1.22E-266 | 1.76E-78   |

Table supplémentaire 4 : Statistiques descriptives liées à la plasticité phénotypique de la norme de réaction des 103 souches de *F. graminearum* pour les deux signaux métaboliques (Unk\_3444 et Unk\_5333) dans les deux environnements (E1 et E2).

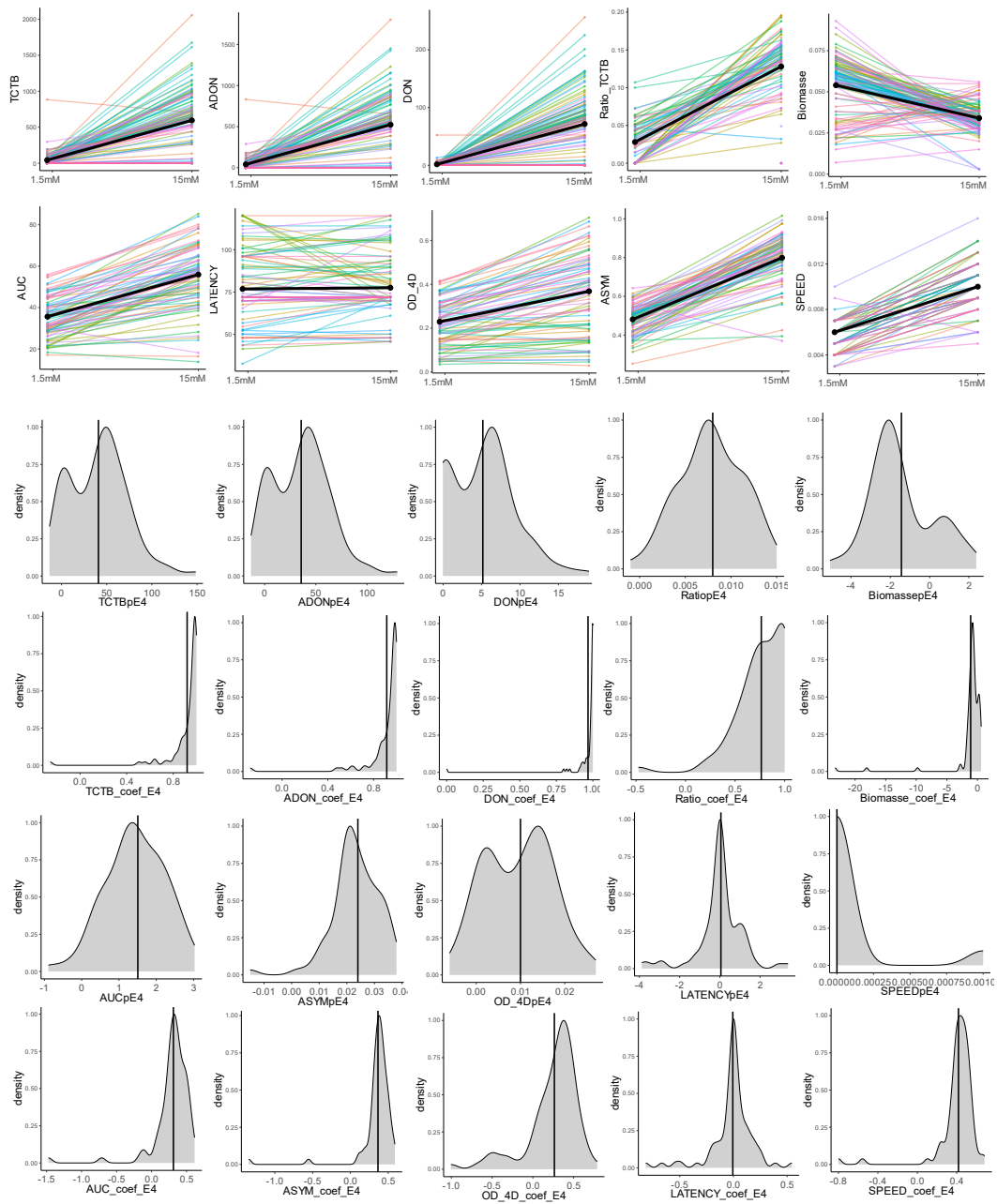
| Plasticité        | Variable | Statistique descriptive | Environnement    |                 |
|-------------------|----------|-------------------------|------------------|-----------------|
|                   |          |                         | E1               | E2              |
| Norme de réaction | Unk_3444 | mean±sd                 | 4.26±12.63       | 12.23±43.13     |
|                   |          | Min-Max                 | -46.12-78.69     | -168.64-207.26  |
|                   |          | CV                      | 2.97             | 3.53            |
|                   |          | n                       | 309              | 284             |
|                   | Unk_5333 | mean±sd                 | -                | -               |
|                   |          | Min-Max                 | 3035.02±10282.67 | 1215.33±4424.93 |
|                   |          | CV                      | -30567.84-       | -13694.49-      |
|                   |          | n                       | 26502.12         | 15026.02        |
|                   |          | CV                      | -3.39            | -3.64           |
|                   |          | n                       | 309              | 284             |

Table supplémentaire 5 : Analyse de variance du modèle 2 (voir article) des deux signaux métaboliques (Unk\_3444 et Unk\_5333) dans les deux environnements (E1 et E2). Le tableau (A) résume la valeur de lambda pour le coefficient BoxCox, Df pour les degrés de liberté du facteur Génotype (G) et des résidus. Shapiro Wilk teste pValue (Shapiro\_pval) et Levene teste la pvalue (Levene\_pval) des résidus pour la normalité et l'homogénéité de la variance respectivement, le R carré ajusté par rapport aux facteurs du modèle (R<sup>2</sup>-ajusté). Le tableau (B) présente les valeurs de moyenne des carrés, de sommes des carrés, de la valeur statistique F et de la valeur p pour le facteur Genotype et les résidus (Residuals).

| <b>A</b> | Variable  | Lambda | dfG | dfr | Shapiro_pval | Levene_pval | R <sup>2</sup> -ajusté | Choix du modèle |
|----------|-----------|--------|-----|-----|--------------|-------------|------------------------|-----------------|
| E1       | Unk_3444p | 0.79   | 102 | 210 | 1.79E-25     | 0.37680862  | 0.63                   | Modele_trans    |
|          | Unk_5333p | 0.58   | 102 | 210 | 2.84E-18     | 0.89465213  | 0.58                   | Modele_trans    |
| E2       | Unk_3444p | 0.38   | 97  | 192 | 1.69E-28     | 0.03603386  | 0.79                   | Modele_trans    |
|          | Unk_5333p | 0.79   | 97  | 192 | 1.22E-13     | 0.41284079  | 0.79                   | Modele_trans    |

| <b>B</b> | Variable | Mean squared |           | Sum squared |          | F value  | Pr(>F)   |
|----------|----------|--------------|-----------|-------------|----------|----------|----------|
|          |          | Genotype     | Residuals | Genotype    | Residual |          |          |
| E1       | Unk_3444 | 3.64E-02     | 5.93E-03  | 3.78E+00    | 1.25E+00 | 6.13E+00 | 6.06E-29 |
|          | Unk_5333 | 2.45E-02     | 4.82E-03  | 2.55E+00    | 1.01E+00 | 5.09E+00 | 9.17E-24 |
| E2       | Unk_3444 | 1.28E-01     | 1.03E-02  | 1.24E+01    | 1.98E+00 | 1.24E+01 | 6.54E-48 |
|          | Unk_5333 | 1.39E-01     | 1.11E-02  | 1.35E+01    | 2.13E+00 | 1.25E+01 | 2.37E-48 |

Figure supplémentaire 1 : Normes de réaction et densité de distribution pour tous les caractères. La ligne noire épaisse représente la moyenne.





## Chapitre 2 : Evolution Expérimentale

### 1. Introduction

L'objectif de ce chapitre est d'analyser la plasticité génomique de *F. graminearum*. Les données permettront d'introduire les bases de la réponse adaptative du champignon *F. graminearum* face à un stress abiotique (la température) en étudiant la dynamique mutationnelle de son génome, à différents stades de développement du champignon. Cette étude est un prérequis afin d'appréhender l'histoire évolutive de l'espèce et qui nous permettrait, à plus long terme, d'anticiper l'émergence de nouvelles souches plus agressives et plus toxigènes. Plusieurs questions vont guider cette étude :

- Quelle dynamique mutationnelle peut-on observer en fonction des différents modes de propagation chez *F. graminearum* ? Quel est l'impact de l'élévation de la température sur la production de mutations (en nombre, en termes d'annotation fonctionnelle) ?
- Quelles modifications phénotypiques liées à la croissance et la production en mycotoxines sont observables au cours des cycles ?
- En quoi la dynamique mutationnelle observée peut contribuer à l'adaptation du champignon ?

2. Article : Maintaining of *Fusarium graminearum* genome integrity under temperature variation: lessons from Evolve and Resequencing experiment

**Maintaining of *Fusarium graminearum* genome integrity under temperature variation: lessons from Evolve and Resequencing experiment**

Antoine Vajou<sup>1+</sup>, Thomas Dumartinet<sup>2+</sup>, Magalie Moinard<sup>1</sup>, Marie Foulongne-Oriol<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> INRAE, MycSA, F-33882 Villenave d'Ornon, France.

<sup>2</sup> Université de Bordeaux, INRAE, BIOGECO, F-33612, Cestas, France

+These authors contributed equally to this work.

\* Corresponding author

Mailing address: INRAE, UR1264 Mycologie et Sécurité des Aliments, bâtiment Qualis, 71 avenue Edouard Bourlaux, CS 20032, F-33882 Villenave d'Ornon cedex, France

Phone: +33 (0)5 57 12 26 35

Fax: +33 (0)5 57 12 25 00

E-mail: [marie.foulongne-oriol@inrae.fr](mailto:marie.foulongne-oriol@inrae.fr)

**Abstract:**

In the context of climate change that will modify the dynamic of plant pathogen populations, a better understanding of the ability of phytopathogenic fungi to evolve under varying environmental conditions is essential to anticipate the emergence of new genotypes better adapted to the environment. The ascomycete *Fusarium graminearum* is a devastating pathogen of cereal crops and can contaminate food and feed with harmful mycotoxins. An evolution of the populations of this pathogen towards more toxigenic and potentially more aggressive strains has been already observed, suggesting a strong capacity of adaptation. Among the evolutionary forces that can shape pathogen populations, the ability of the *F. graminearum* genome to mutate is very poorly documented. To study the dynamic of the mutation events at the genome level in this fungus, we conducted an *in vitro* pilot assay of “evolve and sequence” approach based on an experimental evolution design combined with whole genome resequencing. We studied two modes of propagation, vegetative mycelium and asexual spores under two contrasted environment, elevated temperature (30°C) compared to standard conditions (25°C) over 21-week cycles. The initial culture, considered as the ancestor genotype is designed as S0, and the last one is S19. Three independent evolved populations (lineages) were managed in parallel. All S1 and S19 derived strains were examined for *in vitro* growth and toxin production in the same conditions than those used for experimental evolution (25°C and 30°C). We observed a significant effect of the temperature on each trait, whatever the conditions under which they evolved, but there was little change between S1 and S19. Genomes of the derived strains at S5, S10, S15 and S19 were sequenced and further compared to the genome ancestor (S0). We found 8 variations (6 SNP and 2 Indels) for the vegetative cycles.

## Introduction:

The conceptual framework and state of the art of experimental evolution (EE) applied to fungi were reviewed by Fisher and Lang in 2016. EE is based on multiple parallel cultures with lineage replications (population differences) for multiple generations in a different environment. Ancestral populations serve as control for the observed variation of natural selection or any other evolutionary process. In laboratory settings, EE are frequently subjected to abiotic sublethal stress, such as temperature. Studying genetic and phenotypic changes throughout the whole evolutionary process allows us to identify possible adaptive events.

The authors argued that even though fungi have a short generation time, small compact genomes, and sexual cycles making them particularly valuable for EE, the use of EE in such organisms remains untapped. Since then, many EE studies have been carried out on various fungal species including yeasts or other models, suggesting an expanding research thematic area. For example, EE have been used to explore the emergence of resistance to antifungal products, in *Neurospora crassa* (Zhou et al., 2022), *Candida auris* (Carolus et al., 2021), *Sclerotinia sclerotiorum* (Amaradasa & Everhart, 2016; Gambhir et al., 2021) or *Zymosptoria tritici* (Ballu et al., 2021, 2023; Gutiérrez-Alonso et al., 2017). Evolutionary responses of fungi to abiotic conditions, including high salinity and temperature stress-inducing environments, have been investigated through EE (Gostinčar et al., 2021; Jallet et al., 2020; Sbeiti et al., 2023; Wing et al., 2020). Fitness traits, such as competition ability or virulence were also studied (Kronholm et al., 2020; Sbeiti et al., 2023; Valero-Jiménez et al., 2017). Long-term evolution experiments, conducted over years, have been recently published (Gostinčar et al., 2021; Kudryavtseva et al., 2023). To gain further understanding of the mechanisms underlying the related adaptive process, sequencing approaches, such as Whole-Genome resequencing (e.g. Zhou et al. 2022), RNAseq (e.g. Jallet et al., 2020) were combined with EE in most of the studies cited above.

*Fusarium graminearum* is the primary cause of Fusarium head blight (FHB), a devastating disease affecting cereals such as wheat. During host infection, this well-known species produced mycotoxins such as the family type B trichothecenes (TCTB), including deoxynivalenol (DON) and its acetylated forms (15-ADON and 3-ADON). Those mycotoxins constitute an important food contaminant (Liao et al., 2018; Sobrova et al., 2010) which might damage the immune, gastrointestinal and reproductive systems of both humans and animals (Hooft & Bureau, 2021; Pierzgalinski et al., 2021). Repeated outbreaks of FHB in major grain-

producing regions around the world have resulted in significant losses in grain yield, quality and value (Alisaac & Mahlein, 2023).

Population genetic studies suggest a very high adaptive potential of this species. Indeed, *F. graminearum* populations have shown very high levels of genetic diversity, associated with gene flow between populations (Laurent et al., 2017; Talas et al., 2012; Ward et al., 2008). Recombination is also thought to play an important role in the intra-population diversity observed in the field (Talas et al., 2012; Talas & McDonald, 2015) and contributes to the emergence of isolates with novel allelic combinations that are likely to maintain or increase aggressiveness (Cumagun & Miedaner, 2004; Voss et al., 2010). As other fungal pathogens (Croll et al., 2015; Dong et al., 2015; Raffaele et al., 2010), the bipartite architecture of polymorphisms link to recombination events allowed characterization of the genome as a “two-speed” genome with highly conserved region (core region) and highly variable region which influence the adaptive capacity of the fungus (Laurent et al., 2018). An evolution in the population structure towards more toxigenic and potentially more aggressive strains has already been observed in the USA. Population specific nucleotide signatures suggested local adaptations (Kelly & Ward, 2018). However, mutation dynamics in the species remains poorly documented.

Numerous omics data are available (Ma et al., 2013), including a high-quality reference genome (King et al., 2015), resequencing data (Laurent et al., 2017), and various transcriptomes (Harris et al., 2016). Easily handled in the wet lab with established standard culture protocols (Leslie & Summerell, 2006, p. 200), this fungus has relatively fast vegetative growth and its asexual reproduction cycle could also be mastered in *in vitro* conditions. Together with those features, the relatively small haploid genome with few repeated elements make *F. graminearum* suitable for carrying out EE study. To the best of our knowledge, it's the first E&R approach reported on this fungal species.

This haploid fungus has a small genome of 38 Mb over 4 chromosomes with 14164 coding gene sequences predicted. *F. graminearum* genome showed a low level of genomic complexity as few repeated elements and transposons were discovered (King et al., 2015) undoubtedly linked to the gene silencing mechanism called Repeat Induced Point (RIP) mutation (Cuomo et al., 2007). Another non-negligible ability of *F. graminearum* is to mutate, which could play a significant role in the evolutionary process. By resequencing the genome of the pH1 reference strain, King et al. (2015) reported 2433 mutations (~0.067 per Kb) when compared to the first

genome version sequence (Cuomo et al., 2007). The authors suggested that those differences were likely to be due to evolution of the strain's genome, potentially due to the successive transplant cycles the strain undergone during its conservation and multiplication.

The present study aims to investigate the mutational dynamics of *F. graminearum* and to what extent this dynamics could contribute to the adaptive potential of this phytopathogenic fungus. Precisely, we questioned what are the mutational dynamic during multiplication cycles and the effect of a selection pressure on this dynamic? What gain in fitness could be phenotypically observed? To do this, we conducted an *in vitro* assay based on an EE design combined with whole genome resequencing. We studied two modes of propagation, vegetative mycelium and asexual spores under two contrasted environments, elevated temperature (30°C) compared to standard conditions (25°C) over 21-week cycles. We explored the genotypic and phenotypic differences between ancestral and evolved strains looking for putative adaptation to a sublethal temperature stress.

## Materials and methods

### Establishment of parental culture and serial passage culture scheme

The *F. graminearum* strain I156 isolated from wheat in 2001 in France which was previously phenotypically described and sequenced, was used for E&R experiments. First the strain was grown on PDA (39 g/L, Difco™) in 25°C (S0) and 30°C (TS0). In order to realize the evolution cycles, two propagations modes were chosen. First, vegetative growth (SV), consisting of successive transplants from mycelium implants after an eight day's growth. Plugs were taken at the front of active mycelial growth. Mycelia were grown at 25°C (SV) or 30°C (TSV). For asexual reproduction (SA), four plugs from the first generation (S0 and TS0) were cultured in CMC liquid medium (15g/L carboxymethyl cellulose, 1g/L yeast extract, 0,5 g/L MgSO4.7H2O, 1g/L KH2PO4) during 3 days at 25°C and 150 rpm to produce macroconidia. Then macroconidia were plated on PDA at 25°C (SA1) or 30°C (TSA1). For both propagation modes and both temperatures, subcultures were repeated 19 times with three independent lineages of each advanced generation (Figure 1). One generation corresponds to one subculture cycle. Each generation was conserved in 20% glycerol at -80°C before using S0, S1, S5, S10, S15 and S19 for sequencing and phenotyping (Figure 1).

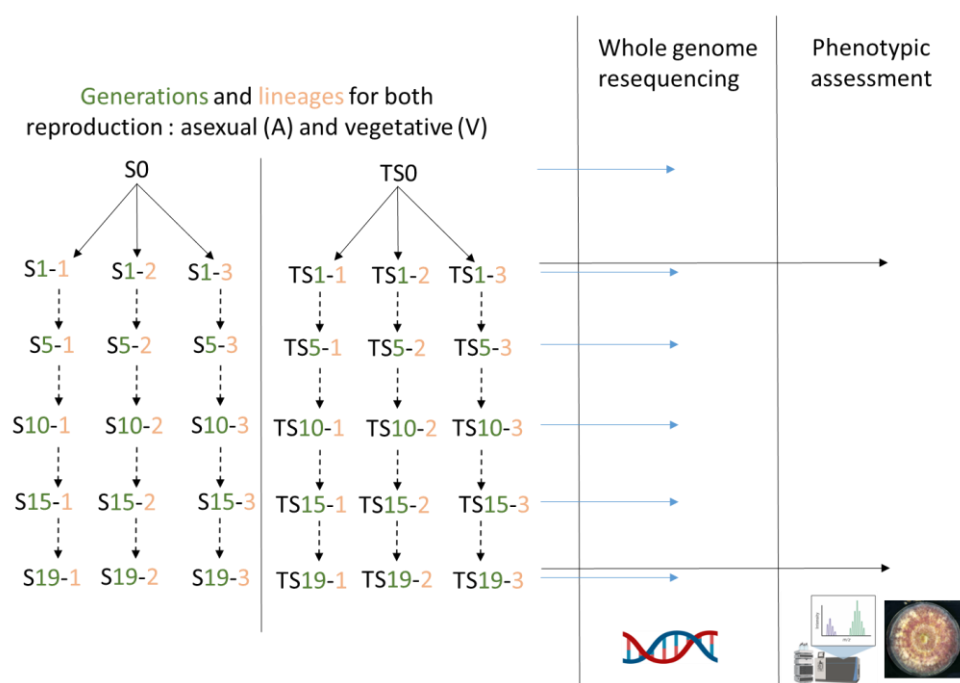


Figure 1: Experimental evolution procedure. S0 is the ancestral strain grown under 25°C (S0) or 30°C (TS0), for each reproduction type: asexual (A) and vegetative cycle (V). Three lineages were cultured at the same time. The number represents the generation in green and the lineage in orange. Horizontal lines with arrow indicate cultures subjected to phenotyping and resequencing.

## Phenotypic assays

### *Toxin quantification*

The mycotoxins assessment consisted of individual liquid culture, in triplicate for each genotype, of 8 mL of MS-Sucrose inoculated with  $10^4$  spore/mL. Fungal liquid cultures were incubated in the dark for 14 days. After, the mycelium was harvested by centrifugation then freeze-dried during 72h for biomass quantification. Mycotoxins extractions were performed on the supernatant. Culture media were stored at -20 °C until TCTB analysis. TCTB were extracted on 4 mL of culture medium with 8 mL ethyl acetate. The organic phase was evaporated to dryness with a speedVac (SPD210, Thermo Scientific) at 50°C. Dried samples were dissolved in 400 µL of methanol/water following the same protocol as Leannec-Rialland publication (Leannec-Rialland et al., 2021). TCTB were quantified by HPLC–DAD using an Agilent Technologies 1100 series liquid chromatograph equipped with an autosampler system, an Agilent photodiode array detector (DAD) and the ChemStation chromatography manager software (Agilent, France). Separation was achieved on a Kinetex XB-C18 100 Å column (4.6 × 150 mm, 2.6 µm) (Phenomenex, France) maintained at 45 °C. The mobile phase consisted of miliQ water (solvent A) and acetonitrile (solvent B). The flow was kept at 1 mL min<sup>-1</sup>. The injection volume was set to 5 µL. TCTB were separated using a gradient elution as follows: 7–30% B in 6 min, 30–90% B in 2 min, 90% B for 2 min, 90–7% B for 1 min, 7% B for 6 min. Quantification was performed by external calibration with standard TCTB solutions (Romer Labs, Austria). We were able to recover the total amount of TCTB which is the sum of DON and the acetylated forms of DON in micrograms per mL of culture.

### *Vegetative Growth*

Each lineage was grown on PDA at 25°C and 30°C. Images were taken with the Scanner Epson Perfection 4990-photo in 48 bit-colors and 800 dot per inches as scan settings. One image of each generation was taken daily for the first 5 days then at dpi+7, dpi+8 and dpi+14 to measure the mycelium-area (cm<sup>2</sup>) and to calculate the growth rate (cm/day). Images were automatically analyzed (area and colors) with ImageJ (Schneider, Rasband, et Eliceiri 2012). Each image was scaling and cropped to obtain only the region of interest using ROI management. Regions of mycelia were measured using a circle section and “measures tools”, set with area and perimeter. Then we recovered the Area under the growth Curve (AUC) using the *audpc* function of agricolae R-package (V1.3-5), in centimeters-square by hours.



## Statistical analysis

All statistical analyses and graphical representations were produced with the R software (v4.0.3). For each trait, descriptive statistics (mean, standard deviation min and max) were computed. Experiments with SA/TSA and SV/TSV were analyzed separately for the TCTB amount production and the AUC. Due to the non-normality of the residual for TCTB data, we used a log<sub>10</sub> transformation to approach the normality. The distribution of the residual was compared to a theoretical normal distribution by plotting normal QQ plots. Both variables were included in a linear mixed effect model using the *lmer* function implemented in the lme4 R-package (V1.1-31). The linear mixed-effect model could be written as follows:

$$Y_{mnop} = \mu + e + g_n + l_o + c_p + e_m : g_n : l_o : c_p + (1|REP) + \varepsilon$$

Where  $Y_{mnop}$  is the observed value,  $\mu$  is the mean of phenotypic variables value,  $e_m$  the fixed effect of the environment  $m$  (condition 25°C or condition 30°C),  $g_n$  the fixed effect of the generation (1 or 19)  $n$ ,  $l_o$  the fixed effect of the lineage (1, 2 or 3)  $o$ ,  $c_p$  the fixed effect of the culture (SA vs TSA and SV vs TSV)  $p$ , (1|REP) the random effect among the replicates and  $\varepsilon$  a residual error. The experimental effects included in the models were investigated by performing a type III analysis of variance (ANOVA Wald chisquare tests) implemented in the car package (V3.1-1) and least-square means (LS-means) were computed from the models using the lsmeans R-package (V2.30-0). The LS-means are the predicted means calculated as the sum of the estimated effects of the model. LS-means were computed in each condition, generation, lineage and culture. The contrast function of the lsmeans package was used to measure the difference between LS-means of interest. The significance of the contrasts was tested by doing t-tests adjusted to the number of tests using Sidak correction method implemented in the lsmeans package after back transformation. The measured LS-means were graphically represented using the ggplot2 package (V3.4.0) where the units of the plots are in cm<sup>2</sup>.h for AUC and µg/mL for TCTB production.

In an original way, we applied the concepts of local adaptation by reciprocal transplantation experiments already described (Dumartinet et al., 2020; Johnson et al., 2010) to our strains from the two evolutionary conditions during their inoculation in the two phenotyping conditions. These experiments aim to determine whether a population of organisms has adapted significantly to a particular host or environment. Two contrasts can be computed to determine the local adaptation (Blanquart et al., 2013). Considering generations and culture type, we estimated the two local adaptations  $\Delta HA$  (“Home versus Away”) and  $\Delta LF$  (“Local versus

Foreign”) contrasts defined by (Blanquart et al., 2013). We used the LS-means values predicted for both traits AUC and TCTB, two phenotypic traits related to *F. graminearum*’s fitness, to compute the contrasts. First,  $\Delta$ HA was computed between the conditions to test, for each culture (SA/TSA/SV/TSV), if a given population performs better in his “Home” habitat compared to the other “Away” habitat. For example, for SA culture, the “Home” condition is 25°C so the “Away” condition is 30°C thus  $\Delta$ HA is the difference between the LS-means values in 25°C and 30°C for SA culture. Second, the  $\Delta$ LF was computed between cultures to test if for a given habitat, the “Local” population originating from this habitat performs better than the “Foreign” population. In this case, the “Local” culture is defined by the condition used to evolve the strains. For example, for the 25°C condition in asexual reproduction, the “Local” culture is SA and the “Foreign” culture is TSA, thus the  $\Delta$ LF is the difference between the LS-means values in SA and TSA.

#### DNA extraction and sequencing

Genomic DNA was extracted from washed and lyophilized mycelium previously grown in Malt (30g/L, Biokar) and glucose (10g, Sigma) liquid medium for 4-5 days. Dry mycelia were grinded with a beads braker (Precellys®) then 1mL of lysis buffer is added (100 mM Tris-HCl (pH8.0), 10 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 2% sarkosyl and 150 mM NaCl) and ground a second round. Then 1mL of phenol (pH 8, Sigma) are added and shaken. After centrifugations, the supernatant was recovered and 1 volume of chloroform-isoamyl alcohol was added. After centrifugation, the supernatant is collected and RNase (0.05 $\mu$ g/ $\mu$ L), during 30min at 37°C) (ThermoScientific) then proteinase K (0.05  $\mu$ g/ $\mu$ L, during 1h at 55°C) (Euromedex) was added successively. Next, one volume of phenol-chlorophorm-isoamyl alcohol (50:49:1, Fisher) and finally one volume of chlorophorm-isoamyl alcohol (24:1, Acros Organics) was successively added to purify the DNA. Nucleic acids were precipitated with ammonium acetate (3M) and cold ethanol absolute (100%), washed in 1 volume of 80% ethanol then 70% ethanol by centrifugation. The pellets were dissolved in 50 $\mu$ L in purified molecular biology grade water. DNA concentration was measured using a fluorometer (Denovix) and controlled by electrophoresis on agarose gel. A total of 60 DNA extracts were sent to the GenomEast platform at the Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology for paired-end Illumina whole genome sequencing (Hiseq 4000, 2x100 bp). Furthermore, we sequenced three times the strain TSV15-2 as control to detect putative sequencing errors in the variant calling process.

## Mapping and variant calling

Genomic reads from each sample were mapped against the *F. graminearum* reference genome (strain PH-1, GCA\_900044135.1 assembly, (King et al., 2015)) using `bwa mem v0.7.17` (Li, 2013). Duplicate reads were removed with the command `MarkDuplicates` implemented in the Picard Toolkit v2.27.4 (Picard Toolkit. 2019. Broad Institute, GitHub Repository <https://broadinstitute.github.io/picard/>). High quality genomic reads (`-q 30`) from all samples were regrouped in a unique mpileup file with `samtools mpileup v1.9` (Danecek et al., 2021) and variant calling (SNPs and Indels) was performed using the commands `mpileup2snp` and `mpileup2indel`, implemented in VarScan v2.4.2 (Koboldt et al., 2012), with parameters to keep only variants with a minimum coverage of 8 (`min-coverage 8`), a number of reads supporting an alternative allele of 4 (`min-reads2 4`), a minimum frequency of 0.7 to consider a variant as homozygous (`min-freq-for-hom 0.7`) and the option to produce an output in the Variant Call Format (`output-vcf 1`). The VCF files were filtered using `vcftools v0.1.16` (Danecek et al., 2011) to keep only genotypes with high quality (`minGQ 20`) and sufficient depth (`minDP 10`), to remove variants located on the mitochondrial chromosome (HG970330) and sites containing more than 5% of missing genotypes (`max-missing 0.95`). Furthermore, SNPs located less than 5 nucleotides from a gap (`SnpGap 5`) and variants (SNPs and Indels) with heterozygous genotypes were filtered with `bcftools v1.9` (Danecek et al., 2021). RepeatMasker v4.1.0 ((Bao et al., 2015; Smit et al., 2013), RepeatMasker Open-4.0. <http://www.repeatmasker.org>) was used to identify repeated elements and low complexity sequences in the PH-1 reference genome. Variants located in these regions that may be the result of sequencing or alignment errors have been excluded from the analysis. Since we used a reference genome originating from a different strain (PH-1) than the strain used for experimental evolution (I156), we had to discriminate between variants that differed between the two strains and variants that appeared during the experimental evolution. We used a subtractive approach based on a custom script to identify sites for which all the I156 samples had the same alternative allele compared to the PH-1 reference strain. After removing the variants related to the I156 strain, the remaining variants were filtered to keep only SNPs and INDELS with a minor allele frequency higher than 3% and variant annotation was performed using `SnEff v4.3T` (Cingolani et al., 2012). Finally, Copy Number Variations (CNVs) were investigated with `CNVnator v0.3.3` (Abyzov et al., 2011) by identifying genomic windows of 1 Kb exhibiting significant variation in normalized coverage ( $P < 0.01$ ). The CNV analysis was carried out only with non-evolved strains (S0 and TS0) and

those of the 19th generation and such as for SNPs and Indels, we excluded all deletion or duplication events that were present in every sample.

## Results

### Experimental evolution via serial subculturing.

Phenotypic changes along the subculture cycles were scrutinized at each generation. No phenotypic change in color was pointed out. However, some sectors were punctually observed (in SV5-1 and SV5-3). Those sectors have been sampled separately and subjected to experimental evolution as an independent lineage. The subsequent phenotyping and resequencing analyses did not reveal any significant differences with the original lineage. Outcomes related to those secondary lineages were not presented below. Also, we noticed a change in colony morphology between the ancestral and evolved cycles only for SV colony and not for TSV (Figure 2). Furthermore, at the first cycle, we observed a slower growth rate between the strains cultivated at 25°C and those cultivated at 30 °C. Starting from S2, strains that evolved at 30°C recovered a growth rate comparable to those that evolved at 25°C. This ability to grow at 30°C was maintained until the latest generations (Figure 2). Unfortunately, no other quantification of these observations was made.

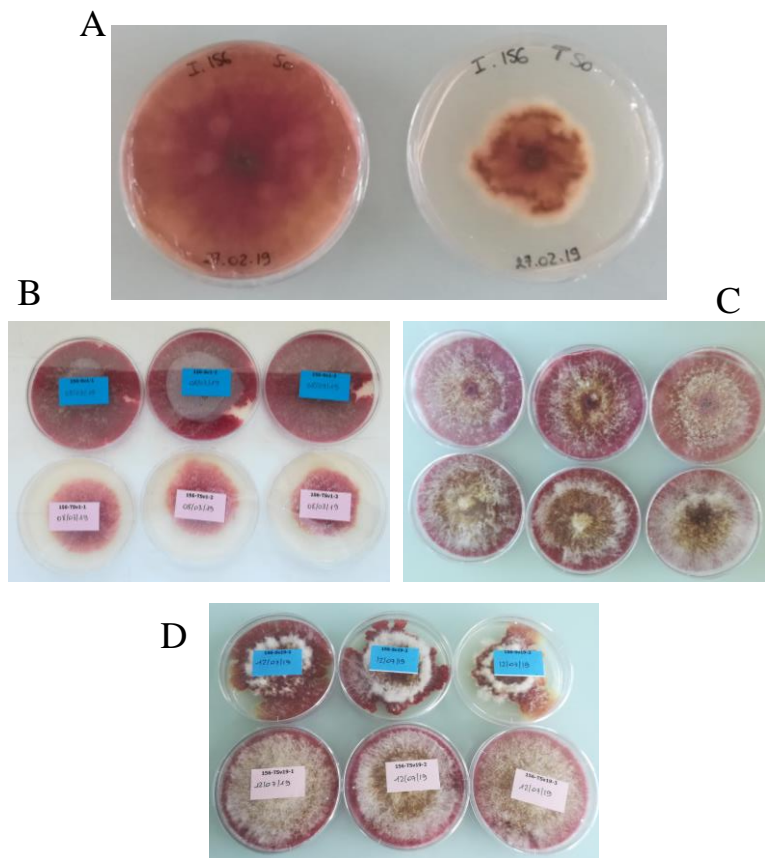


Figure 2: Pictures of the growth of *Fusarium graminearum* strain INRA156. (A) Petri dish for the ancestral strains placed at 25°C (S0) and 30°C (TS0). Vegetative mode of propagation at the 1<sup>st</sup> (B), the 2<sup>nd</sup> (C) and the 19<sup>th</sup> (D) cycle at both evolved temperature (SV up and TSV down).

### Phenotyping across generations.

The different types of culture of the first (SA1/TSA1, SV1/TSV1, 3 lineages each) and the last generation of the evolved strains (SA19/TSA19, SV19/TSV19, 3 lineages each) were assessed for their ability to grow and produce mycotoxin under two temperature conditions (25°C vs. 30°C) for *in vitro* culture.

Growth curves showed barely visible differences whatever the condition for all cultures, generations and lineages (Figure 3 A-B). Concerning asexual reproduction, we observed significant differences for AUC (ANOVA  $p=2.10e-24$ , table S1-S3) between the conditions (25°C vs 30°C). No differences were noticed for AUC between SA1/ SA19 and TSA1/ TSA19 at 25°C (Figure 3 C-G), similar observation could be made at 30°C except for the lineage 3 for SA1 and SA19 (mean $\pm$ sd: 198.82 $\pm$ 5.67 and 235.04 $\pm$ 9.73 respectively, table S1).

Concerning vegetative cycles, we observed significant differences for AUC (ANOVA  $p=1.99e-136$ , table S1 and S3) between the culture conditions (25°C vs 30°C). Then, we observed a global decrease of AUC values between generations and culture condition (ANOVA,  $p=1.07e-02$ , table S3). Also, for the 30°C condition, significant decrease of AUC is observed between TSV1 and TSV19 for the lineage 3 (212.71 $\pm$ 7.03 and 262.39 $\pm$ 5.52 respectively) (see table S4).

Concerning asexual reproduction, for TCTB production (Figure 4), we noticed significant differences (ANOVA,  $p=6.79e-11$ , tables S2-S3) between conditions (25°C vs 30°C). No differences for interaction between generations and lineages are shown except for SA1-2 (625.82 $\pm$ 155.25 $\mu$ g/mL) and SA19-2 at 25°C (7.64 $\pm$ 2.8 $\mu$ g/mL). The type of culture (SA vs TSA) seemed to influence the production of TCTB (ANOVA,  $p=5.33e-03$ ). But interaction between generation, culture, condition and lineage showed no significant change in TCTB production. Comparing the 1st and the 19th generation, regardless of the evolution temperature, the growth in both temperatures didn't change significantly the TCTB production. We observed a slight but no significant increase (Figure 4, table S4-S5) of toxins production for lineages 1 (0 $\pm$ 0, 113.15 $\pm$ 16.12  $\mu$ g/mL) and 3 (0 $\pm$ 0, 203.9 $\pm$ 28.38  $\mu$ g/mL) between generations SA1 and SA19 at 30°C. And non-significant decrease (from 39.90% to 80.28%) was noticed for all lineages between TSA1 and TSA19 at 30°C.

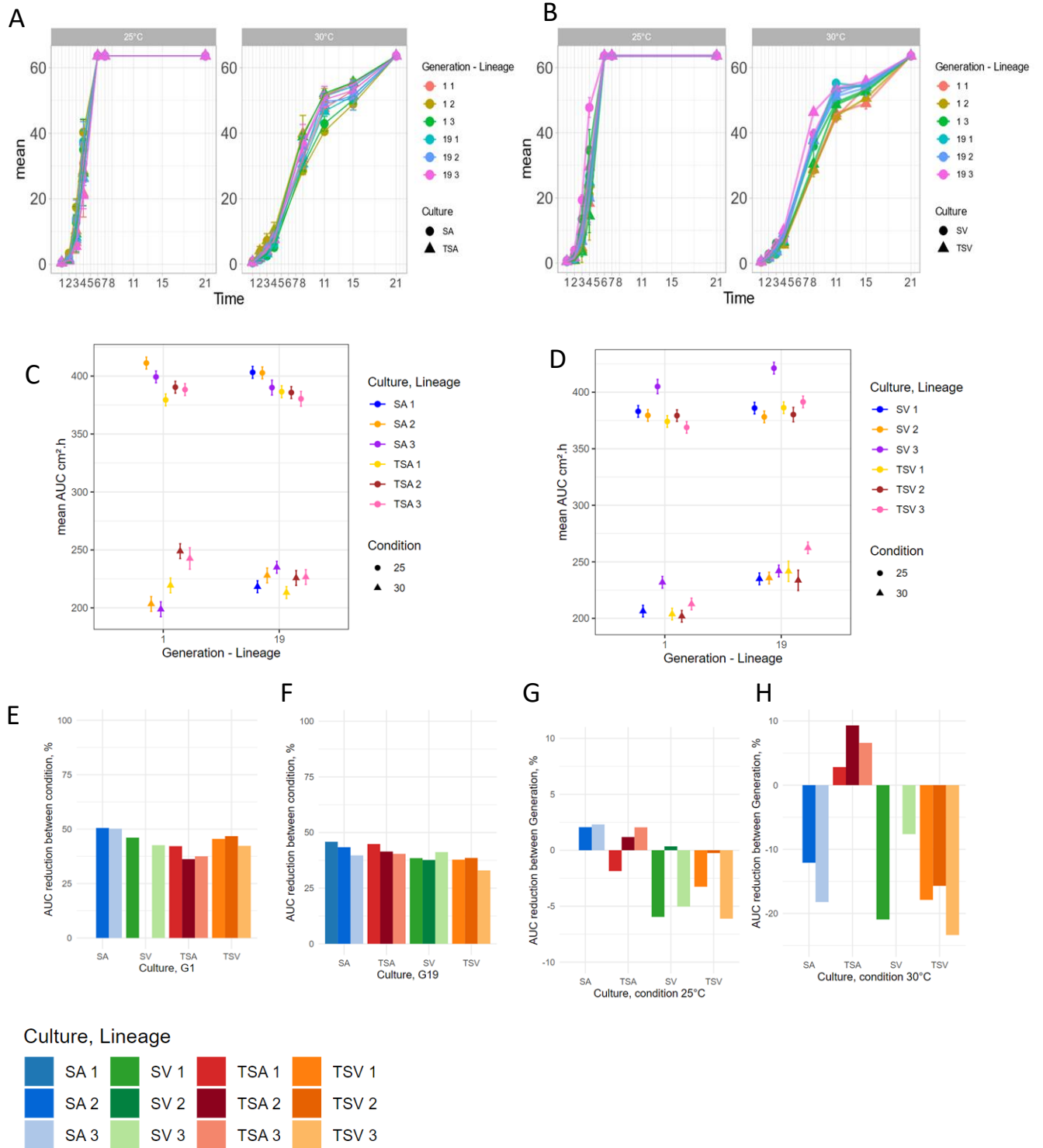


Figure 3: Phenotyping of generations 1 and 19. Growth kinetics for all generations and lineages at 25°C and 30°C. The time growth is in days with mean and sd (n=3) for asexual (A) and vegetative cycles (B). AUC values calculated by LS-means (mean and sd) for asexual (C) and vegetative cycles (D), statistical differences are shown in table S1. Relative growth between condition for generation 1 (E) and 19 (F) with 25°C as referential condition and relative growth between generation for the 25°C (G) and 30°C (H) condition with the 1<sup>st</sup> generation as referential.

Concerning vegetative cycles (Figure 4), we observed a significant increase of TCTB production at 25°C compared with 30°C condition (ANOVA,  $p=4.73e-16$ , table S2-S3. Interaction between generations, cultures, conditions and lineages showed no significant change in TCTB production for vegetative cycles. We noticed a slight but non-significant increase of TCTB production between SV1 and SV19 at 30°C and with a decrease for lineage 2 and 3 but an increase for lineage 1 between TSV1 and TSV19 (Figure 4).

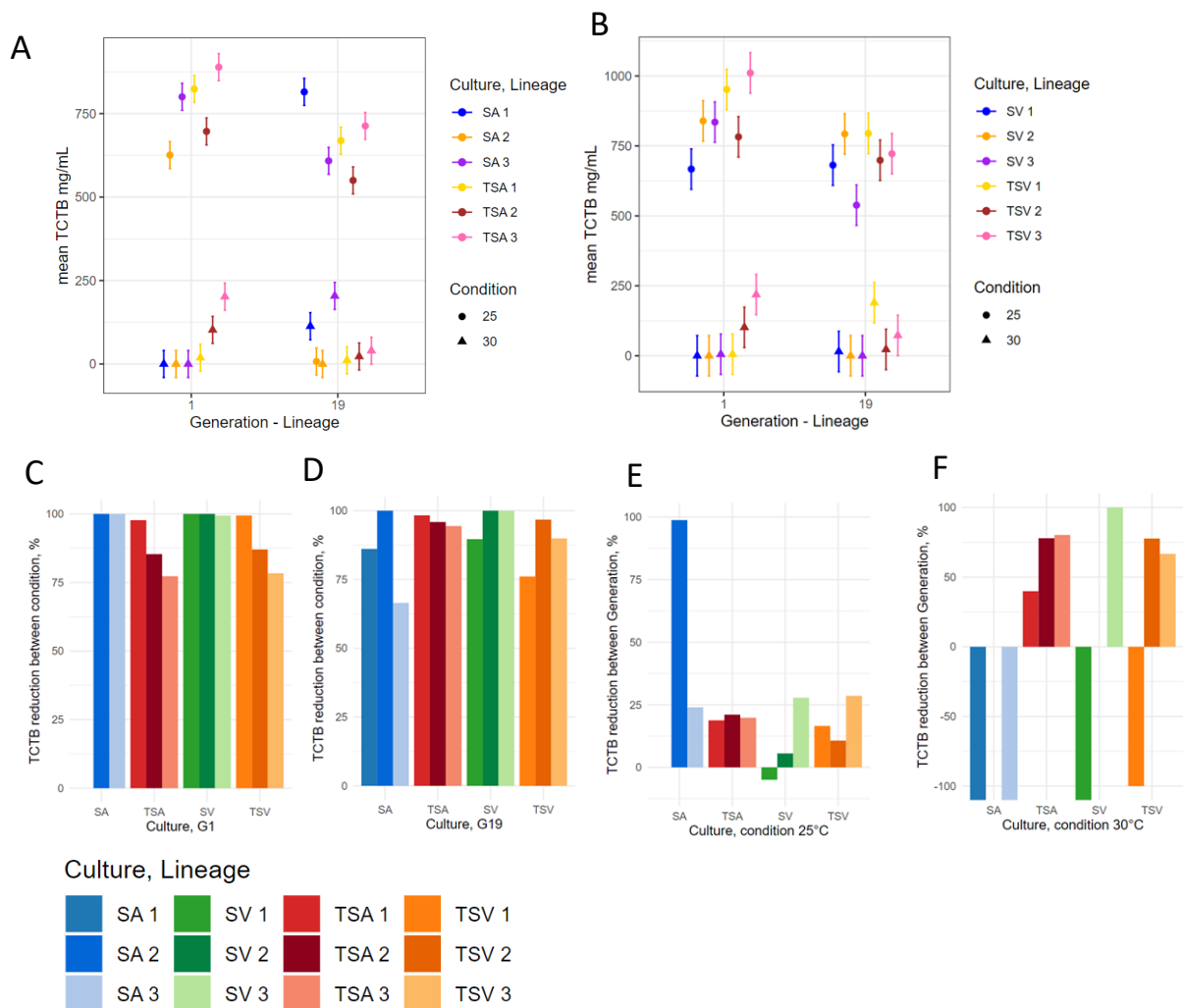


Figure 4: Phenotyping of generations 1 and 19. TCTB production for all generations and lineages at 25°C and 30°C for asexual (A) and vegetative cycles (B). TCTB values calculated by LS-means (mean and sd) shown in table S2. Relative growth between condition for generation 1 (C) and 19 (D) with 25°C as referential condition and relative growth between generation for the 25°C (E) and 30°C (F) condition with the 1<sup>st</sup> generation as referential.



Local adaptation of population evolved in 30°C in the 19th cycle compared with the 1st cycle.

To identify possible pattern of adaptation we computed local adaptation of the population to provide clues on the ability of the evolved versus ancestral strains to adapt specifically to a particular condition. Based on LSMeans of AUC and TCTB, we investigated the existence of local adaptation patterns in both conditions and for all cultures by measuring and testing Home versus Away ( $\Delta$ HA, in our case 25°C for SA/SV and 30°C for TSA/TSV) and Local versus Foreign ( $\Delta$ LF, in our case SA (or SV) versus TSA (or TSV)) contrasts (Figure 5 and Table S6). A contrast ( $\Delta$ HA or  $\Delta$ LF) that do not differ significantly from different from 0, means that there is no adaptation. First, we computed the  $\Delta$ HA contrast in order to measure the effect of the environment on the populations with the “Home” environment being the temperature of 25°C for SA and SV or 30°C for TSA and TSV. For both traits (AUC and TCTB), the  $\Delta$ HA values were significantly different from zero ( $p < 0.05$ ) regardless of the condition (either 25°C or 30°C), except SA-1 and SA-19 for TCTB production. For both modes of culture, the values of  $\Delta$ HA were positive for the strains evolved at 25°C (SA or SV) but negative for the strains evolved at 30°C (TSA or TSV). These results suggest that all the strains, regardless of the temperature at which they evolved, performed better at 25°C than at 30°C, in terms of growth or toxin production.

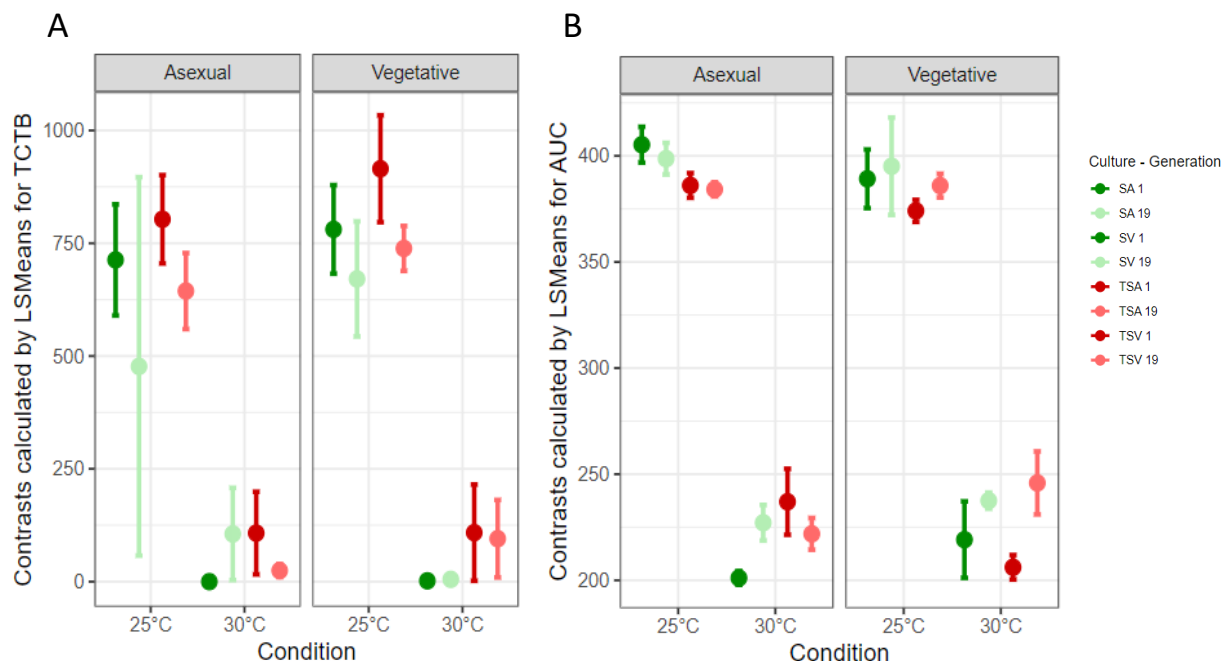


Figure 5: Adjusted means (LSMeans) of the TCTB (A) and AUC (B) phenotypes on the 1<sup>st</sup> and 19<sup>th</sup> generation, the 25°C and 30°C condition, and all 4 cultures (SA/TSA/SV/TSV). Each point represents the mean of the 3 lineages with standard deviation, considering the samples from the original environment (SA-SV at 25°C and TSA-TSV at 30°C) and tested environment (SA-SV at 30°C and TSA-TSV at 25°C) to test for local adaptation (see also table S6).

Then, we computed the  $\Delta LF$  contrast in order to measure difference of fitness between several populations in a given environment. The  $\Delta LF$  values were significantly different from zero for the AUC phenotype measured at 30°C when we compared TSA toward SA at the 1<sup>st</sup> generation (Figure 5 and Table S6). The first result suggested that the TSA strains perform better at 30°C compared to the SA strains that were evolved at 25°C which could be due to local adaptation. Unfortunately, this result was observed only for the first generation but not for the 19<sup>th</sup> generation. Overall, the  $\Delta LF$  was not significant for most of the conditions tested, which may be due to an absence of local adaptation to growing temperatures (25 and 30°C) or an insufficient statistical power due to the lack of experimental replicates.

### Several mutations acquired during Experimental evolution of the *F. graminearum* INRA156 strain.

The sequencing of the 60 strains from the experimental evolution trial yielded in average 41.77 million raw reads per strain for an average sequencing depth of 106.79X (ranging from 42.78X to 611.98X, Table S7). For one sample (TSV19-2), sequences could not be used due to probable sample contamination. Our sequencing data covered at least 97.51 % of the *F. graminearum* reference genome (Table S7).

Analysis of these data enabled us to identify 101,640 SNPs, 4,266 Indels and 15 CNVs in the ancestral strain I156 compared to the PH-1 reference genome. After excluding the variants related to the I156 strain and common in all derived strains, we detected eight variants, including six SNPs and two Indels that appeared during the experimental evolution trial (details in Table 1, Figure 6).

| Chromosome | Position | REF | ALT  | Type | Condition | Variant Type       | Gene Name         | Annotation (FungiDB)  |
|------------|----------|-----|------|------|-----------|--------------------|-------------------|---|
| HG970332   | 2443874  | C   | T    | SNP  | TSV       | Synonymous variant | FGRAMPH1_01G01877 | s-adenosylmethionine:diacylglycerol 3-amino-3-carboxypropyl transferase |
| HG970332   | 3073986  | A   | G    | SNP  | TSV       | Synonymous variant | FGRAMPH1_01G02349 | Hypothetical protein  |
| HG970332   | 4300393  | C   | T    | SNP  | SV        | Missense variant   | FGRAMPH1_01G03221 | Hypothetical protein  |
| HG970332   | 5394218  | C   | T    | SNP  | TSV       | Intergenic         | NA                | NA  |
| HG970333   | 4165282  | G   | A    | SNP  | TSV       | Intergenic         | NA                | NA  |
| HG970333   | 4837495  | T   | C    | SNP  | SV        | Intergenic         | NA                | NA  |
| HG970332   | 10082023 | T   | TC   | INS  | SV        | Frameshift variant | FGRAMPH1_01G07447 | Twin-Arginine Translocation (TAT) pathway signal sequence               |
| HG970332   | 10822384 | T   | TGCA | INS  | TSV       | 5'-UTR variant     | FGRAMPH1_01G24989 | Hypothetical protein  |

Table 1: Details (position, variant type and annotation) of the 8 variants identified during the experimental evolution trial.

Those variants were found only in strains evolved using vegetative subculturing (SV/TSV). The six SNPs were only transitions (no transversions) and the Indels were small insertions of one and three nucleotides respectively. No CNVs were detected between the ancestral strains and those evolved after 19 generations, suggesting that no large deletion or duplication events occurred during the experiment. The variants were not evenly distributed over the chromosomes ( $\chi^2$  test,  $p < 0.05$ ) as they were all located on HG970332 and HG970333. The genomic modifications were found either in highly polymorphic regions or in less variable ones ( $\chi^2$  test, n.s. probability) suggesting that the mutations were not associated with the pattern of standing genetic variation observed. Five mutations were detected in lineages grown at 30°C (TSV), whereas three mutations were identified in lineages grown at 25°C (SV).

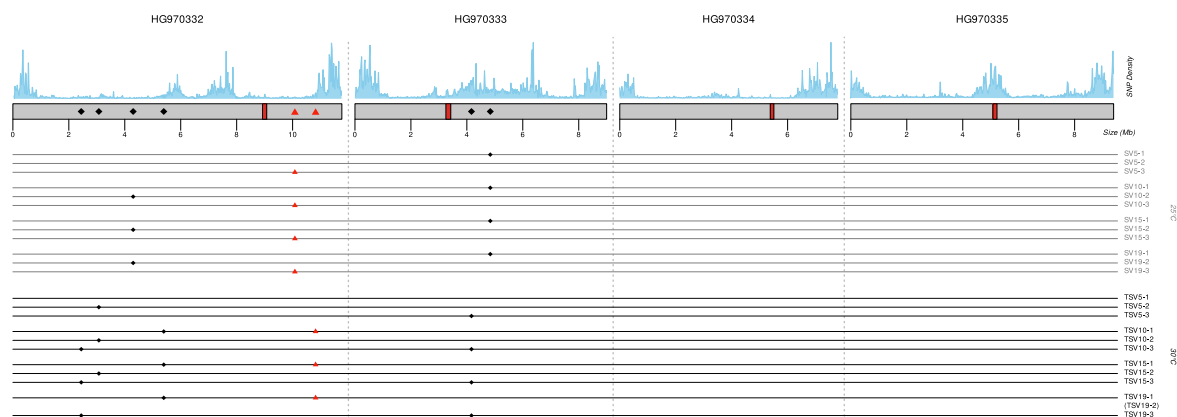


Figure 6: Plot showing the SNPs density for the ancestral strain I156 compared to pH1 reference genome, and the variant distribution along the four chromosomes of *Fusarium graminearum* in the different evolved strains by passaging cultures, grown at 25°C (SV in grey) or 30°C (TSV in black), from generation 5 to generation 19. Centromeres are indicated with red rectangles, SNPs and INDELS are represented with black dots and red triangles respectively.

Mutations were detected from S5 or S10 and maintained in the different lineages until the end of the experiment (S19). Only the strains TSV19-1 and TSV19-3 accumulated two different genomic modifications, with one SNP and one Indel or two SNPs respectively. Each mutation event was found uniquely in one lineage, suggesting that per generation, lineage evolved independently (Figure 6). The variant annotation revealed that 3 mutations were located in intergenic regions, 1 insertion was found in the 5'-UTR region of the gene FGRAMPH1\_01G24989 and 4 variants (2 synonymous, 1 missense and 1 frameshift variant)

were inside four different genes (FGRAMPH1\_01G01877, FGRAMPH1\_01G02349, FGRAMPH1\_01G03221, FGRAMPH1\_01G07447, respectively) (Table 1).

## Discussion

In the current context of climate change, the elevation of the temperature is one of the main factors influencing the spreading of *F. graminearum*, its aggressiveness and the level of the mycotoxin contamination in cereals (Vaughan et al., 2016). In this context, our study investigates how abiotic environments such as an increase of temperature could bring phenotypic and genotypic variations using an original approach of E&R experiment.

In our study, after sequencing, we detected five mutations for TSV and three for SV and only transitions were observed for single nucleotides variants, which represented a low number of mutations. These results were unexpected in comparison to those obtained with the resequencing of the PH-1 strain (King et al. 2015). Indeed, 2433 variants including SNPs or INDELS, were found in the update version of the reference genome compared to the first one. The authors argued that these mutations could have arisen as a result of successive transplants of the strain, but consequences of sequencing errors could not be completely excluded. The maintaining of the genome integrity under vegetative growth is variable between fungi. In the fairy-ring mushroom *Marasmius oreades*, 103 single nucleotides variants were found leading to one of the lowest mutation rates in fungi ( $3.79 \times 10^{-12}$  mutations/ site/ cell division). They also demonstrated that the mutation accumulation didn't come from the bottleneck linked to passaging which would drastically increase the fixation probability of any mutated cells (Hiltunen et al., 2019). In the basidiomycetes *Schizophyllum commune* high mutation rate per generation ( $\sim 2.04 \times 10^{-11}$  mutations/ nucleotides/ cell division) has been found during vegetative growth, contributing to high polymorphism (Bezmenova et al., 2020).

The mutational dynamics of the genome could be modulated by the mode of propagation (Drenth et al., 2019). Vegetative growth may promote somatic mutations linked to successive mitosis and asexual reproduction may involve more complex molecular mechanisms during cell differentiation. In this study, we used two modes of propagation which were vegetative subculture and asexual reproduction, both occurring at different stages of the fungus life cycle (Leplat et al., 2013; Trail, 2009). Asexual spores are known to be one of the survival stages of the fungus in soil or on crop residues and they serve as the primary sources of inoculum for disease initiation. During the initial stages of infection in the floral parts of wheat, spores germinate, and mycelia proliferate extracellularly. Then, the fungus progress intracellularly, leading to cell death and necrotrophic phase (Walter et al., 2010). This phase is facilitated by the production of DON which has been demonstrated to act as a virulence factor in wheat infection (Desjardins & Proctor, 2007). Sexual reproduction involving recombination is also

known to have a strong mutagenic effect (Gaboriaud & Wu, 2019; Wittenberg et al., 2009). Unfortunately, we could not study the effect of such a mode of reproduction as we were unable to produce ascospores of *F. graminearum* at 30°C. We didn't observe clear phenotypic differences in the behavior of the evolved strains whatever the mode of propagation used (SV/TSV or SA/TSA). Regarding genomic differences, we detected mutations only in vegetative growth experiments, and none was detected in asexual reproduction experiments.

The rapid fixation of the mutations (from the 5<sup>th</sup> generation) could be explained by a genetic drift, due to strong bottleneck during subcultures (Lynch et al. 2016). Since the process of spores production requires a subculture step, this would also arise in the SA/TSA lineages. A dilution effect due to the large size of the population of spores produced could explain our results. There were too few spores with mutations to produce a phenotype that could be selected compared with most of the spore with no mutations.

In our study, we used only 3 lineages as it was done on *Magnaporthe oryzae* (Jeon et al., 2013). The number of independent lineages followed during experimental evolution was found to be quite variable in fungi with for example only 2 lineages on *Neurospora crassa*'s azole resistance (Zhou et al., 2022), but 6 lineages of *Candida albicans* (Cowen et al., 2000). In both cases, authors showed strong contrasted phenotypes between ancestral and derived strain as well as observation of random evolutionary trajectory within lineages. These evolutionary trajectories have been highlighted in an EE of *Zymoseptoria tritici* between temperatures. In fact, the study brought the evidence that 57% of the transcriptome varies among genotypes and the modification of the transcriptome was linked to different functional categories between two genotypic backgrounds, where adaptation could take place (Jallet et al., 2020).

We found mutations both in SV and TSV evolved strains without evident link with a potential adaptive phenotype to the higher temperature condition. Of the eight variants found, only two, detected in SV condition, may have an impact on the phenotype as they modified the protein encoded. The SNP HG970332\_4300393 (C>T) is a missense variant found in a gene coding a hypothetical protein. The subsequent amino acid change may alter the structure and the function of the protein. The other notable variant was an indel at position HG970332\_10082023 (T>TC), found in the gene FGRAMPH1\_01G07447, which encode a protein involved in the Tat (Twin-Arginine Translocation) pathway. This pathway serves the role of transporting folded proteins across energy-transducing membranes. The protein possesses a TIM beta/alpha-barrel domain specific to PLC-like phosphodiesterase family involved in lipid metabolism. The found variant induces a frameshift in the open reading frame, resulting in a nonfunctional protein. Although

these proteins are essential for cell membrane integrity, we cannot establish a causal relationship between serial passaging and appearance of this mutation. We assumed that those mutations might have occurred randomly, independently of the evolving environment rather than under the effect of some selection pressure.

One question arises from our data is to what extent the applied thermal stress is sufficient to provide changes in phenotype and adaptation between ancestral and evolved subculture? Even if we observed phenotypic variations between 25°C and 30°C conditions, this might not be sufficient to induce mutation related to a possible adaptation to the temperature for the evolved strains. In Jeon et al. (2013), the authors proposed that UV induces the deamination of G:C into A:T, playing a major role in the mutagenesis of the derived strains. Also, they evoked that UV stress is more important in natural conditions. In other experiments, we noticed antifungal drugs used as mutagen agents to guide the evolution of the population (Gutiérrez-Alonso et al., 2017). In *F. graminearum*, in mutant strains deleted for H2A.Z histone gene, 10 compensatory mutations were found after a whole genome re-sequencing (Chen et al. 2020). The authors suggest that those mutations were selected to rescue deleterious phenotypes in the mutants, arguing that the deletion of H2A.Z led to a detrimental gene perturbation. Therefore, we may hypothesize that in *F. graminearum* mutation events are driven by “stress-dose-dependent” selection as already suggested in *Z. tritici* (Gutiérrez-Alonso et al., 2017). However, in a non-inducing mutation environment, *F. oxysporum* revealed at least 30 mutations in laboratory agar media, suggesting that mutation ability is also species dependent. To go further, patterns of mutations produced and selected in response to a stressful environment may differ depending on the strain being examined (Chen et al. 2020, Gambhir et al. 2021) implying that genome plasticity is an intrinsic property specific to each strain. We propose to use different strains to decipher whether the mutation ability is dependent of the genomic background.

Our findings demonstrate a low mutation ability of *F. graminearum* under low stress-dose, suggesting that the type and the level of selection pressure is important. Also, based on the results, an elevated temperature, from 1.5°C to 3°C as expected under climate change scenarios, may be not enough to induce large amount of genetic change drive by mutations events. The genetic landscape of *F. graminearum* may be shape more by recombination or genes flux between populations (Laurent et al., 2018; Pan et al., 2016; Ward et al., 2008) and natural selection with balancing selection (Ward et al., 2002) than by mutation.

Supplemental tables:

Table S1: AUC (AUC cm<sup>2</sup>.h) for the two generations and all evolved strains. NA means no data obtained for the strain and "-" means no strains were obtained from the experimental procedures.

| Culture | Lineage | Parameters | Condition 25°C |               | Condition 30°C |               |
|---------|---------|------------|----------------|---------------|----------------|---------------|
|         |         |            | G1             | G19           | G1             | G19           |
| SA      | 1       | mean±sd    | Na             | 403.22±4.93   | Na             | 227.97±4.25   |
|         |         | min-max    | Na             | 399.13-408.69 | Na             | 224.96-230.98 |
|         | 2       | mean±sd    | 411.24±6.64    | 402.76±12.46  | 203.39±1.1     | 218.29±5.92   |
|         |         | min-max    | 406.35-418.8   | 391.49-416.14 | 202.62-204.17  | 213.28-224.82 |
|         | 3       | mean±sd    | 399.29±14.63   | 390.05±3.37   | 198.82±5.67    | 235.04±9.73   |
|         |         | min-max    | 384.42-413.67  | 387.67-392.43 | 194.8-202.83   | 227.07-245.88 |
| TSA     | 1       | mean±sd    | 379.45±10.49   | 669.04±62.46  | 219.4±1.38     | 213.23±3.71   |
|         |         | min-max    | 372.24-391.49  | 596.94-706.56 | 218.43-220.38  | 209.8-217.16  |
|         | 2       | mean±sd    | 390.41±1.79    | 549.97±215.8  | 248.96±19.1    | 225.78±9.96   |
|         |         | min-max    | 388.68-392.25  | 305.67-714.63 | 235.46-262.46  | 218.74-232.82 |
|         | 3       | mean±sd    | 388.37±15.28   | 712.98±12.25  | 242.6±NA       | 226.62±13.4   |
|         |         | min-max    | 378.7-405.98   | 698.94-721.55 | 242.6-242.6    | 217.14-236.1  |
| SV      | 1       | mean±sd    | 383.05±16.9    | 385.96±5.39   | 206.4±2.18     | 234.96±7.05   |
|         |         | min-max    | 365.03-398.55  | 381.28-391.85 | 204.19-208.55  | 227.44-241.41 |
|         | 1bis    | mean±sd    | -              | 425.76±3.3    | -              | 264.26±5.62   |
|         |         | min-max    | -              | 422.62-429.2  | -              | 259.33-270.38 |
|         | 2       | mean±sd    | 379.49±21.1    | 378.16±2.93   | Na             | 235.69±4.61   |
|         |         | min-max    | 365.16-403.71  | 375.65-381.38 | Na             | 231.26-240.46 |
|         | 3       | mean±sd    | 404.29±12.78   | 421.27±4.56   | 231.89±10.37   | 241.91±4.39   |
|         |         | min-max    | 395.25-413.32  | 418.04-426.48 | 223.38-243.44  | 236.85-244.78 |
|         | 3bis    | mean±sd    | -              | 428.02±1.97   | -              | 261.1±1.41    |
|         |         | min-max    | -              | 426.14-430.06 | -              | 260.1-262.09  |
| TSV     | 1       | mean±sd    | 374.11±6.45    | 386.29±9.69   | 203.76±3.28    | 240.2±NA      |
|         |         | min-max    | 366.7-378.46   | 378.93-397.26 | 201.68-207.54  | 240.2-240.2   |
|         | 2       | mean±sd    | 379.3±10.41    | 380.23±6.2    | 201.87±6.16    | 233.55±NA     |
|         |         | min-max    | 367.29-385.71  | 375.85-384.62 | 195.16-207.28  | 233.55-233.55 |
|         | 3       | mean±sd    | 391.43±9.41    | 722.06±156.02 | 212.71±7.03    | 262.39±5.52   |
|         |         | min-max    | 382.94-401.54  | 548.76-851.37 | 208.1-220.79   | 257.48-268.36 |



Table S2: TCTB production ( $\mu\text{g/mL}$ ) for the two generations and all evolved strains. NA means no data obtained for the strain and "-" means no strains were obtained from the experimental procedures.

| Culture | Lineage | Parameters    | Condition 25°C      |                     | Condition 30°C     |                    |
|---------|---------|---------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
|         |         |               | S1                  | S19                 | S1                 | S19                |
| SA      | 1       | mean $\pm$ sd | Na                  | 815.07 $\pm$ 75.54  | 0 $\pm$ 0          | 113.15 $\pm$ 16.12 |
|         |         | min-max       | Na                  | 730.83-876.79       | 0-0                | 99.7-131.02        |
|         | 2       | mean $\pm$ sd | 625.82 $\pm$ 155.25 | 7.64 $\pm$ 2.8      | 0 $\pm$ 0          | 0 $\pm$ 0          |
|         |         | min-max       | 460.01-767.74       | 5.08-10.63          | 0-0                | 0-0                |
|         | 3       | mean $\pm$ sd | 800.25 $\pm$ 121.92 | 608.51 $\pm$ 20.37  | 0 $\pm$ 0          | 203.9 $\pm$ 28.38  |
|         |         | min-max       | 667.97-908.12       | 595.55-631.98       | 0-0                | 178.99-234.8       |
| TSA     | 1       | mean $\pm$ sd | 823.67 $\pm$ 67.17  | 669.04 $\pm$ 62.46  | 18.8 $\pm$ 22.94   | 11.3 $\pm$ 5.9     |
|         |         | min-max       | 769.04-898.67       | 596.94-706.56       | 3.95-45.22         | 4.49-15.03         |
|         | 2       | mean $\pm$ sd | 696.65 $\pm$ 92.44  | 549.97 $\pm$ 215.8  | 102.16 $\pm$ 1.9   | 22.54 $\pm$ 7.61   |
|         |         | min-max       | 589.9-750.31        | 305.67-714.63       | 100.06-103.75      | 16.89-31.2         |
|         | 3       | mean $\pm$ sd | 889.18 $\pm$ 42.98  | 712.98 $\pm$ 12.25  | 201.8 $\pm$ 26.92  | 39.79 $\pm$ 13.99  |
|         |         | min-max       | 843.2-928.36        | 698.94-721.55       | 185.55-232.87      | 23.69-48.92        |
| SV      | 1       | mean $\pm$ sd | 667.21 $\pm$ 416.27 | 681.45 $\pm$ 87.28  | 0 $\pm$ 0          | 15.24 $\pm$ 13.54  |
|         |         | min-max       | 186.55-908.95       | 596.43-770.83       | 0-0                | 0-25.89            |
|         | 1bis    | mean $\pm$ sd | -                   | 719.36 $\pm$ 30.19  | -                  | 129.73 $\pm$ 87.36 |
|         |         | min-max       | -                   | 685.29-742.79       | -                  | 62.16-228.37       |
|         | 2       | mean $\pm$ sd | 839.49 $\pm$ 31.5   | 792.82 $\pm$ 4.7    | 0 $\pm$ 0          | 0 $\pm$ 0          |
|         |         | min-max       | 813.09-874.36       | 787.46-796.23       | 0-0                | 0-0                |
|         | 3       | mean $\pm$ sd | 835.13 $\pm$ 267.27 | 538.24 $\pm$ 199.39 | 5.33 $\pm$ 9.23    | 0 $\pm$ 0          |
|         |         | min-max       | 598-1124.76         | 311.26-685.2        | 0-15.99            | 0-0                |
|         | 3bis    | mean $\pm$ sd | -                   | 667.52 $\pm$ 58.88  | -                  | 0 $\pm$ 0          |
|         |         | min-max       | -                   | 599.89-707.42       | -                  | 0-0                |
| TSV     | 1       | mean $\pm$ sd | 952.1 $\pm$ 113.5   | 794.55 $\pm$ 61.8   | 5.55 $\pm$ 3.03    | 189.99 $\pm$ 98.53 |
|         |         | min-max       | 821.2-1023.07       | 746.14-864.17       | 2.17-8.02          | 109.04-299.7       |
|         | 2       | mean $\pm$ sd | 782.45 $\pm$ 129.94 | 698.82 $\pm$ 11.31  | 101.46 $\pm$ 70.43 | 22.62 $\pm$ 10.64  |
|         |         | min-max       | 635.42-881.87       | 688.46-710.89       | 26.64-166.48       | 15.07-34.79        |
|         | 3       | mean $\pm$ sd | 1010.76 $\pm$ 97.44 | 722.06 $\pm$ 156.02 | 218.67 $\pm$ 17.15 | 72.75 $\pm$ 19.59  |
|         |         | min-max       | 911.44-1106.21      | 548.76-851.37       | 200.22-234.13      | 50.2-85.53         |

Table S3: Analysis of variance of effect of condition, generation, culture, lineage and their interactions on TCTB production and AUC of all *Fusarium graminearum* evolved strains.

| Variable                             |    | AUC                  |            |                         |            | TCTB                 |            |                         |            |
|--------------------------------------|----|----------------------|------------|-------------------------|------------|----------------------|------------|-------------------------|------------|
| Culture                              |    | Asexual reproduction |            | Vegetative reproduction |            | Asexual reproduction |            | Vegetative reproduction |            |
| Parameter                            | DF | Chisq                | Pr(>Chisq) | Chisq                   | Pr(>Chisq) | Chisq                | Pr(>Chisq) | Chisq                   | Pr(>Chisq) |
| (Intercept)                          | 1  | 7.48E+02             | 9.15E-165  | 5.51E+03                | 0.00E+00   | 8.52E+01             | 2.76E-20   | 6.15E+01                | 4.40E-15   |
| Condition                            | 1  | 1.04E+02             | 2.10E-24   | 6.18E+02                | 1.99E-136  | 4.26E+01             | 6.79E-11   | 6.59E+01                | 4.73E-16   |
| Generation                           | 1  | 1.83E-01             | 6.68E-01   | 1.68E-01                | 6.82E-01   | 1.94E-02             | 8.89E-01   | 7.51E+00                | 6.13E-03   |
| Lineage                              | 2  | 2.73E+00             | 2.55E-01   | 1.14E+01                | 3.42E-03   | 3.69E+00             | 1.58E-01   | 1.73E+01                | 1.73E-04   |
| Culture                              | 1  | 1.75E+00             | 1.86E-01   | 1.58E+00                | 2.08E-01   | 7.76E+00             | 5.33E-03   | 7.20E+00                | 7.27E-03   |
| Condition:Generation                 | 1  | 3.73E+00             | 5.36E-02   | 6.52E+00                | 1.07E-02   | 4.76E-05             | 9.94E-01   | 1.42E+01                | 1.65E-04   |
| Condition:Lineage                    | 2  | 1.86E+00             | 3.94E-01   | 1.36E-01                | 9.34E-01   | 1.79E+00             | 4.08E-01   | 1.40E+01                | 8.96E-04   |
| Generation:Lineage                   | 2  | 1.92E+00             | 3.84E-01   | 2.87E+00                | 2.38E-01   | 5.20E+00             | 7.42E-02   | 3.02E+01                | 2.71E-07   |
| Condition:Culture                    | 1  | 1.01E+01             | 1.52E-03   | 3.93E-01                | 5.31E-01   | 3.73E+00             | 5.34E-02   | 9.20E+00                | 2.42E-03   |
| Generation:Culture                   | 1  | 1.18E-02             | 9.13E-01   | 8.50E-01                | 3.57E-01   | 1.41E+00             | 2.35E-01   | 3.45E+00                | 6.31E-02   |
| Lineage:Culture                      | 2  | 1.31E+00             | 5.20E-01   | 1.20E+01                | 2.48E-03   | 5.83E+00             | 5.41E-02   | 1.25E+01                | 1.90E-03   |
| Condition:Generation:Lineage         | 2  | 6.70E-01             | 7.15E-01   | 4.81E+00                | 9.03E-02   | 2.34E+00             | 3.11E-01   | 5.12E+00                | 7.74E-02   |
| Condition:Generation:Culture         | 1  | 9.05E+00             | 2.63E-03   | 8.40E-06                | 9.98E-01   | 2.78E+00             | 9.54E-02   | 1.11E+01                | 8.71E-04   |
| Condition:Lineage:Culture            | 2  | 8.80E-01             | 6.44E-01   | 8.71E-01                | 6.47E-01   | 4.89E+00             | 8.67E-02   | 7.96E+00                | 1.87E-02   |
| Generation:Lineage:Culture           | 1  | 2.90E-02             | 8.65E-01   | 2.31E-01                | 8.91E-01   | 8.39E-01             | 6.57E-01   | 2.04E+01                | 3.68E-05   |
| Condition:Generation:Lineage:Culture | 1  | 5.92E-03             | 9.39E-01   | 2.37E+00                | 1.24E-01   | 3.17E+00             | 2.05E-01   | 1.10E+00                | 2.95E-01   |

Table S4: Contrast calculated on the basis of the ANOVA. Letters in "group" column show differences.

Variable TCTB

| Condition | Culture | Generation | Lineage | response  | SE       | df | lower.CL  | upper.CL | .group |
|-----------|---------|------------|---------|-----------|----------|----|-----------|----------|--------|
| 25        | SV      | 1          | 1       | 6.67E+02  | 7.23E+01 | 48 | 4.33E+02  | 9.02E+02 | cd     |
| 25        | SV      | 1          | 2       | 8.39E+02  | 7.23E+01 | 48 | 6.05E+02  | 1.07E+03 | cd     |
| 25        | SV      | 1          | 3       | 8.35E+02  | 7.23E+01 | 48 | 6.00E+02  | 1.07E+03 | cd     |
| 25        | SV      | 19         | 1       | 6.81E+02  | 7.23E+01 | 48 | 4.47E+02  | 9.16E+02 | cd     |
| 25        | SV      | 19         | 2       | 7.93E+02  | 7.23E+01 | 48 | 5.58E+02  | 1.03E+03 | cd     |
| 25        | SV      | 19         | 3       | 5.38E+02  | 7.23E+01 | 48 | 3.04E+02  | 7.73E+02 | bc     |
| 25        | TSV     | 1          | 1       | 9.52E+02  | 7.23E+01 | 48 | 7.17E+02  | 1.19E+03 | d      |
| 25        | TSV     | 1          | 2       | 7.82E+02  | 7.23E+01 | 48 | 5.48E+02  | 1.02E+03 | cd     |
| 25        | TSV     | 1          | 3       | 1.01E+03  | 7.23E+01 | 48 | 7.76E+02  | 1.25E+03 | d      |
| 25        | TSV     | 19         | 1       | 7.95E+02  | 7.23E+01 | 48 | 5.60E+02  | 1.03E+03 | cd     |
| 25        | TSV     | 19         | 2       | 6.99E+02  | 7.23E+01 | 48 | 4.64E+02  | 9.34E+02 | cd     |
| 25        | TSV     | 19         | 3       | 7.22E+02  | 7.23E+01 | 48 | 4.87E+02  | 9.57E+02 | cd     |
| 30        | SV      | 1          | 1       | -2.27E-13 | 7.23E+01 | 48 | -2.35E+02 | 2.35E+02 | a      |
| 30        | SV      | 1          | 2       | 1.71E-13  | 7.23E+01 | 48 | -2.35E+02 | 2.35E+02 | a      |
| 30        | SV      | 1          | 3       | 5.33E+00  | 7.23E+01 | 48 | -2.29E+02 | 2.40E+02 | a      |
| 30        | SV      | 19         | 1       | 1.52E+01  | 7.23E+01 | 48 | -2.19E+02 | 2.50E+02 | a      |
| 30        | SV      | 19         | 2       | 3.57E-14  | 7.23E+01 | 48 | -2.35E+02 | 2.35E+02 | a      |
| 30        | SV      | 19         | 3       | 5.71E-14  | 7.23E+01 | 48 | -2.35E+02 | 2.35E+02 | a      |
| 30        | TSV     | 1          | 1       | 5.55E+00  | 7.23E+01 | 48 | -2.29E+02 | 2.40E+02 | a      |
| 30        | TSV     | 1          | 2       | 1.01E+02  | 7.23E+01 | 48 | -1.33E+02 | 3.36E+02 | a      |
| 30        | TSV     | 1          | 3       | 2.19E+02  | 7.23E+01 | 48 | -1.60E+01 | 4.53E+02 | ab     |
| 30        | TSV     | 19         | 1       | 1.90E+02  | 7.23E+01 | 48 | -4.47E+01 | 4.25E+02 | ab     |
| 30        | TSV     | 19         | 2       | 2.26E+01  | 7.23E+01 | 48 | -2.12E+02 | 2.57E+02 | a      |
| 30        | TSV     | 19         | 3       | 7.28E+01  | 7.23E+01 | 48 | -1.62E+02 | 3.07E+02 | a      |

Variable TCTB

| Condition | Culture | Generation | Lineage | response  | SE       | df | lower.CL  | upper.CL | .group |
|-----------|---------|------------|---------|-----------|----------|----|-----------|----------|--------|
| 25        | SA      | 1          | 1       | NA        | NA       | NA | NA        | NA       |        |
| 25        | SA      | 1          | 2       | 6.26E+02  | 4.05E+01 | 46 | 4.94E+02  | 7.58E+02 | bc     |
| 25        | SA      | 1          | 3       | 8.00E+02  | 4.05E+01 | 46 | 6.68E+02  | 9.32E+02 | cd     |
| 25        | SA      | 19         | 1       | 8.15E+02  | 4.05E+01 | 46 | 6.83E+02  | 9.47E+02 | cd     |
| 25        | SA      | 19         | 2       | 7.64E+00  | 4.05E+01 | 46 | -1.24E+02 | 1.39E+02 | a      |
| 25        | SA      | 19         | 3       | 6.09E+02  | 4.05E+01 | 46 | 4.77E+02  | 7.40E+02 | bc     |
| 25        | TSA     | 1          | 1       | 8.24E+02  | 4.05E+01 | 46 | 6.92E+02  | 9.56E+02 | cd     |
| 25        | TSA     | 1          | 2       | 6.97E+02  | 4.05E+01 | 46 | 5.65E+02  | 8.28E+02 | bcd    |
| 25        | TSA     | 1          | 3       | 8.89E+02  | 4.05E+01 | 46 | 7.57E+02  | 1.02E+03 | d      |
| 25        | TSA     | 19         | 1       | 6.69E+02  | 4.05E+01 | 46 | 5.37E+02  | 8.01E+02 | bcd    |
| 25        | TSA     | 19         | 2       | 5.50E+02  | 4.05E+01 | 46 | 4.18E+02  | 6.82E+02 | b      |
| 25        | TSA     | 19         | 3       | 7.13E+02  | 4.05E+01 | 46 | 5.81E+02  | 8.45E+02 | bcd    |
| 30        | SA      | 1          | 1       | -2.73E-12 | 4.05E+01 | 46 | -1.32E+02 | 1.32E+02 | a      |
| 30        | SA      | 1          | 2       | -1.14E-13 | 4.05E+01 | 46 | -1.32E+02 | 1.32E+02 | a      |
| 30        | SA      | 1          | 3       | 2.84E-12  | 4.05E+01 | 46 | -1.32E+02 | 1.32E+02 | a      |
| 30        | SA      | 19         | 1       | 1.13E+02  | 4.05E+01 | 46 | -1.87E+01 | 2.45E+02 | a      |
| 30        | SA      | 19         | 2       | -1.28E-13 | 4.05E+01 | 46 | -1.32E+02 | 1.32E+02 | a      |
| 30        | SA      | 19         | 3       | 2.04E+02  | 4.05E+01 | 46 | 7.21E+01  | 3.36E+02 | a      |
| 30        | TSA     | 1          | 1       | 1.88E+01  | 4.05E+01 | 46 | -1.13E+02 | 1.51E+02 | a      |
| 30        | TSA     | 1          | 2       | 1.02E+02  | 4.05E+01 | 46 | -2.97E+01 | 2.34E+02 | a      |
| 30        | TSA     | 1          | 3       | 2.02E+02  | 4.05E+01 | 46 | 7.00E+01  | 3.34E+02 | a      |
| 30        | TSA     | 19         | 1       | 1.13E+01  | 4.05E+01 | 46 | -1.21E+02 | 1.43E+02 | a      |
| 30        | TSA     | 19         | 2       | 2.25E+01  | 4.05E+01 | 46 | -1.09E+02 | 1.54E+02 | a      |
| 30        | TSA     | 19         | 3       | 3.98E+01  | 4.05E+01 | 46 | -9.20E+01 | 1.72E+02 | a      |

## Variable AUC

| Condition | Culture | Generation | Lineage | lsmean   | SE       | df       | lower.CL | upper.CL | .group |
|-----------|---------|------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|
| 25        | SV      | 1          | 1       | 3.83E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 3.66E+02 | 4.00E+02 | fg     |
| 25        | SV      | 1          | 2       | 3.79E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 3.62E+02 | 3.96E+02 | fg     |
| 25        | SV      | 1          | 3       | 4.05E+02 | 6.34E+00 | 3.95E+01 | 3.84E+02 | 4.26E+02 | gh     |
| 25        | SV      | 19         | 1       | 3.86E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 3.69E+02 | 4.03E+02 | fg     |
| 25        | SV      | 19         | 2       | 3.78E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 3.61E+02 | 3.95E+02 | fg     |
| 25        | SV      | 19         | 3       | 4.21E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 4.04E+02 | 4.38E+02 | h      |
| 25        | TSV     | 1          | 1       | 3.74E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 3.57E+02 | 3.91E+02 | fg     |
| 25        | TSV     | 1          | 2       | 3.79E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 3.62E+02 | 3.96E+02 | fg     |
| 25        | TSV     | 1          | 3       | 3.69E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 3.52E+02 | 3.86E+02 | f      |
| 25        | TSV     | 19         | 1       | 3.86E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 3.69E+02 | 4.03E+02 | fg     |
| 25        | TSV     | 19         | 2       | 3.80E+02 | 6.34E+00 | 3.95E+01 | 3.59E+02 | 4.01E+02 | fg     |
| 25        | TSV     | 19         | 3       | 3.91E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 3.74E+02 | 4.08E+02 | fg     |
| 30        | SV      | 1          | 1       | 2.06E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 1.89E+02 | 2.23E+02 | ab     |
| 30        | SV      | 1          | 2       | NA       | NA       | NA       | NA       | NA       |        |
| 30        | SV      | 1          | 3       | 2.32E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 2.15E+02 | 2.49E+02 | bcd    |
| 30        | SV      | 19         | 1       | 2.35E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 2.18E+02 | 2.52E+02 | cde    |
| 30        | SV      | 19         | 2       | 2.36E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 2.19E+02 | 2.53E+02 | cde    |
| 30        | SV      | 19         | 3       | 2.42E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 2.25E+02 | 2.59E+02 | de     |
| 30        | TSV     | 1          | 1       | 2.04E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 1.87E+02 | 2.21E+02 | a      |
| 30        | TSV     | 1          | 2       | 2.02E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 1.85E+02 | 2.19E+02 | a      |
| 30        | TSV     | 1          | 3       | 2.13E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 1.96E+02 | 2.30E+02 | abc    |
| 30        | TSV     | 19         | 1       | 2.42E+02 | 9.00E+00 | 4.00E+01 | 2.12E+02 | 2.71E+02 | abcde  |
| 30        | TSV     | 19         | 2       | 2.34E+02 | 9.00E+00 | 4.00E+01 | 2.04E+02 | 2.63E+02 | abcde  |
| 30        | TSV     | 19         | 3       | 2.62E+02 | 5.16E+00 | 3.81E+01 | 2.45E+02 | 2.79E+02 | e      |

## Variable AUC

| Condition | Culture | Generation | Lineage | lsmean   | SE       | df       | lower.CL | upper.CL | .group |
|-----------|---------|------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|
| 25        | SA      | 1          | 1       | NA       | NA       | NA       | NA       | NA       |        |
| 25        | SA      | 1          | 2       | 4.11E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 3.94E+02 | 4.28E+02 | e      |
| 25        | SA      | 1          | 3       | 3.99E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 3.82E+02 | 4.16E+02 | de     |
| 25        | SA      | 19         | 1       | 4.03E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 3.86E+02 | 4.20E+02 | de     |
| 25        | SA      | 19         | 2       | 4.03E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 3.86E+02 | 4.20E+02 | de     |
| 25        | SA      | 19         | 3       | 3.90E+02 | 6.40E+00 | 3.30E+01 | 3.69E+02 | 4.11E+02 | de     |
| 25        | TSA     | 1          | 1       | 3.79E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 3.62E+02 | 3.97E+02 | d      |
| 25        | TSA     | 1          | 2       | 3.90E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 3.73E+02 | 4.08E+02 | de     |
| 25        | TSA     | 1          | 3       | 3.88E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 3.71E+02 | 4.05E+02 | de     |
| 25        | TSA     | 19         | 1       | 3.87E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 3.69E+02 | 4.04E+02 | de     |
| 25        | TSA     | 19         | 2       | 3.86E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 3.69E+02 | 4.03E+02 | de     |
| 25        | TSA     | 19         | 3       | 3.80E+02 | 6.43E+00 | 3.30E+01 | 3.59E+02 | 4.02E+02 | de     |
| 30        | SA      | 1          | 1       | NA       | NA       | NA       | NA       | NA       |        |
| 30        | SA      | 1          | 2       | 2.03E+02 | 6.40E+00 | 3.30E+01 | 1.82E+02 | 2.25E+02 | ab     |
| 30        | SA      | 1          | 3       | 1.99E+02 | 6.40E+00 | 3.30E+01 | 1.77E+02 | 2.20E+02 | a      |
| 30        | SA      | 19         | 1       | 2.18E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 2.01E+02 | 2.35E+02 | abc    |
| 30        | SA      | 19         | 2       | 2.28E+02 | 6.43E+00 | 3.30E+01 | 2.07E+02 | 2.49E+02 | abc    |
| 30        | SA      | 19         | 3       | 2.35E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 2.18E+02 | 2.52E+02 | bc     |
| 30        | TSA     | 1          | 1       | 2.19E+02 | 6.40E+00 | 3.30E+01 | 1.98E+02 | 2.41E+02 | abc    |
| 30        | TSA     | 1          | 2       | 2.49E+02 | 6.40E+00 | 3.30E+01 | 2.28E+02 | 2.70E+02 | c      |
| 30        | TSA     | 1          | 3       | 2.43E+02 | 9.28E+00 | 3.30E+01 | 2.12E+02 | 2.74E+02 | abc    |
| 30        | TSA     | 19         | 1       | 2.13E+02 | 5.14E+00 | 3.30E+01 | 1.96E+02 | 2.30E+02 | ab     |
| 30        | TSA     | 19         | 2       | 2.26E+02 | 6.40E+00 | 3.30E+01 | 2.04E+02 | 2.47E+02 | abc    |
| 30        | TSA     | 19         | 3       | 2.27E+02 | 6.40E+00 | 3.30E+01 | 2.05E+02 | 2.48E+02 | abc    |

Table S5: Relative AUC and TCTB production between conditions and generations.

| Generation 1 between conditions |         |                 |
|---------------------------------|---------|-----------------|
| Culture                         | Lineage | TCTB_Reduction% |
| SA                              | 1       | NA              |
| SA                              | 2       | 100             |
| SA                              | 3       | 100             |
| SV                              | 1       | 100             |
| SV                              | 2       | 100             |
| SV                              | 3       | 99.36           |
| TSA                             | 1       | 97.72           |
| TSA                             | 2       | 85.34           |
| TSA                             | 3       | 77.30           |
| TSV                             | 1       | 99.42           |
| TSV                             | 2       | 87.03           |
| TSV                             | 3       | 78.37           |

| Generation 19 between conditions |         |                 |
|----------------------------------|---------|-----------------|
| Culture                          | Lineage | TCTB_Reduction% |
| SA                               | 1       | 86.12           |
| SA                               | 2       | 100.00          |
| SA                               | 3       | 66.49           |
| SV                               | 1       | 89.65           |
| SV                               | 2       | 100.00          |
| SV                               | 3       | 100.00          |
| TSA                              | 1       | 98.31           |
| TSA                              | 2       | 95.90           |
| TSA                              | 3       | 94.42           |
| TSV                              | 1       | 76.09           |
| TSV                              | 2       | 96.76           |
| TSV                              | 3       | 89.92           |

| Generation 1 between conditions |         |                |
|---------------------------------|---------|----------------|
| Culture                         | Lineage | AUC_Reduction% |
| SA                              | 1       | NA             |
| SA                              | 2       | 50.54185495    |
| SA                              | 3       | 50.20661933    |
| SV                              | 1       | 46.11649429    |
| SV                              | 2       | NA             |
| SV                              | 3       | 42.64312731    |
| TSA                             | 1       | 42.17881144    |
| TSA                             | 2       | 36.23050127    |
| TSA                             | 3       | 37.53277573    |
| TSV                             | 1       | 45.53408742    |
| TSV                             | 2       | 46.77804191    |
| TSV                             | 3       | 42.33801557    |

| Generation 19 between conditions |         |                |
|----------------------------------|---------|----------------|
| Culture                          | Lineage | AUC_Reduction% |
| SA                               | 1       | 45.86          |
| SA                               | 2       | 43.40          |
| SA                               | 3       | 39.74          |
| SV                               | 1       | 38.50          |
| SV                               | 2       | 37.68          |
| SV                               | 3       | 41.23          |
| TSA                              | 1       | 44.83          |
| TSA                              | 2       | 41.48          |
| TSA                              | 3       | 40.43          |
| TSV                              | 1       | 37.82          |
| TSV                              | 2       | 38.58          |
| TSV                              | 3       | 32.97          |

| Condition 25°C between generations |         |                 |
|------------------------------------|---------|-----------------|
| Culture                            | Lineage | TCTB_Reduction% |
| SA                                 | 1       | NA              |
| SA                                 | 2       | 98.78           |
| SA                                 | 3       | 23.96           |
| SV                                 | 1       | -4.97           |
| SV                                 | 2       | 5.56            |
| SV                                 | 3       | 27.81           |
| TSA                                | 1       | 18.77           |
| TSA                                | 2       | 21.05           |
| TSA                                | 3       | 19.82           |
| TSV                                | 1       | 16.55           |
| TSV                                | 2       | 10.69           |
| TSV                                | 3       | 28.56           |

| Condition 30°C between generations |         |                 |
|------------------------------------|---------|-----------------|
| Culture                            | Lineage | TCTB_Reduction% |
| SA                                 | 1       | -Inf            |
| SA                                 | 2       | NA              |
| SA                                 | 3       | -Inf            |
| SV                                 | 1       | -Inf            |
| SV                                 | 2       | NA              |
| SV                                 | 3       | 100.00          |
| TSA                                | 1       | 39.90           |
| TSA                                | 2       | 77.93           |
| TSA                                | 3       | 80.28           |
| TSV                                | 1       | -3325.00        |
| TSV                                | 2       | 77.70           |
| TSV                                | 3       | 66.73           |

| Condition 25°C between generations |         |                |
|------------------------------------|---------|----------------|
| Culture                            | Lineage | AUC_Reduction% |
| SA                                 | 2       | 2.06           |
| SA                                 | 3       | 2.31           |
| SA                                 | 1       | NA             |
| SV                                 | 1       | -5.95          |
| SV                                 | 2       | 0.35           |
| SV                                 | 3       | -5.03          |
| TSA                                | 1       | -1.86          |
| TSA                                | 2       | 1.18           |
| TSA                                | 3       | 2.05           |
| TSV                                | 1       | -3.25          |
| TSV                                | 2       | -0.25          |
| TSV                                | 3       | -6.11          |

| Condition 30°C between generations |         |                |
|------------------------------------|---------|----------------|
| Culture                            | Lineage | AUC_Reduction% |
| SA                                 | 2       | -12.09         |
| SA                                 | 3       | -18.22         |
| SA                                 | 1       | NA             |
| SV                                 | 1       | -20.94         |
| SV                                 | 2       | NA             |
| SV                                 | 3       | -7.63          |
| TSA                                | 1       | 2.81           |
| TSA                                | 2       | 9.31           |
| TSA                                | 3       | 6.59           |
| TSV                                | 1       | -17.88         |
| TSV                                | 2       | -15.69         |
| TSV                                | 3       | -23.36         |

Table S6: Values of local adaptation contrasts based on the HA (Home vs. Away) and LF (Local vs. Foreign) measurements.

| Generation | Trait | LocalAdap   | test   | Condition | Contrast | SD     | p_value |
|------------|-------|-------------|--------|-----------|----------|--------|---------|
| 1          | AUC   | $\Delta$ LF | SA-TSA | 25        | 15.87    | 07.01  | 0.19    |
|            |       |             | SV-TSV | 25        | 15.09    | 18.75  | 0.3     |
|            |       |             | TSA-SA | 30        | 44.7     | 1.23   | 0.01    |
|            |       |             | TSV-SV | 30        | -10.91   | 11.7   | 0.41    |
|            | TCTB  |             | SA-TSA | 25        | -79.88   | 12.8   | 0.07    |
|            |       |             | SV-TSV | 25        | -134.49  | 174.64 | 0.31    |
|            |       |             | TSA-SA | 30        | 107.59   | 91.62  | 0.18    |
|            |       |             | TSV-SV | 30        | 106.78   | 104    | 0.22    |
| 19         | AUC   |             | SA-TSA | 25        | 14.44    | 4.14   | 0.03    |
|            |       |             | SV-TSV | 25        | 9.16     | 17.93  | 0.47    |
|            |       |             | TSA-SA | 30        | -5.23    | 3.11   | 0.1     |
|            |       |             | TSV-SV | 30        | 8.35     | 11.38  | 0.33    |
|            | TCTB  |             | SA-TSA | 25        | -166.92  | 348.4  | 0.49    |
|            |       |             | SV-TSV | 25        | -67.64   | 144.38 | 0.5     |
|            |       |             | TSA-SA | 30        | -81.14   | 95.03  | 0.28    |
|            |       |             | TSV-SV | 30        | 90.04    | 77.53  | 0.18    |

| Generation | Trait | LocalAdap   | Test      | Culture | Contrast | SD     | p_value |
|------------|-------|-------------|-----------|---------|----------|--------|---------|
| 1          | AUC   | $\Delta$ HA | cd25-cd30 | SA      | 204.16   | 5.22   | 0.01    |
|            |       |             |           | SV      | 174.89   | 2.48   | 0.01    |
|            |       |             | cd30-cd25 | TSA     | -149.08  | 9.74   | 0.001   |
|            |       |             |           | TSV     | -167.99  | 10.82  | 0.001   |
|            | TCTB  |             | cd25-cd30 | SA      | 713.03   | 123.34 | 0.08    |
|            |       |             |           | SV      | 778.84   | 96.79  | 0.01    |
|            |       |             | cd30-cd25 | TSA     | -695.58  | 105.43 | 0.01    |
|            |       |             |           | TSV     | -806.55  | 133.38 | 0.01    |
| 19         | AUC   |             | cd25-cd30 | SA      | 171.56   | 15.22  | 0.003   |
|            |       |             |           | SV      | 157.61   | 19.31  | 0.005   |
|            |       |             | cd30-cd25 | TSA     | -162.36  | 9.97   | 0.001   |
|            |       |             |           | TSV     | -140.1   | 9.63   | 0.002   |
|            | TCTB  |             | cd25-cd30 | SA      | 371.39   | 348.33 | 0.21    |
|            |       |             |           | SV      | 665.76   | 127.29 | 0.01    |
|            |       |             | cd30-cd25 | TSA     | -619.45  | 80.07  | 0.01    |
|            |       |             |           | TSV     | -643.36  | 36.19  | 0.001   |

Table S7: Sequencing and mapping information for the 60 *Fusarium graminearum* strains sequenced from the experimental evolution trial.

| N° | Sample Name | Sample Code | Experiment | Generation | Temperature (°C) | Total Reads (M) | Mapped Reads (M) | Properly paired (M) | Properly mapped (%) | Mean Depth   | Median Depth  | Genome coverage (%) |              |
|----|-------------|-------------|------------|------------|------------------|-----------------|------------------|---------------------|---------------------|--------------|---------------|---------------------|--------------|
| 1  | MRFL01      | S0          | S          | 0          | 25               | 28.38           | 27.57            | 27.36               | 96.42               | 73.60        | 73.00         | 97.95               |              |
| 2  | MRFL02      | TS0         | TS         | 0          | 30               | 29.07           | 28.34            | 28.09               | 96.62               | 76.04        | 78.00         | 97.51               |              |
| 3  | MRFL03      | SA 1-2      | SA         | 1          | 25               | 19.76           | 19.28            | 17.47               | 88.43               | 51.35        | 29.00         | 97.61               |              |
| 4  | MRFL04      | SA 1-3      | SA         | 1          | 25               | 20.57           | 20.14            | 17.98               | 87.40               | 53.47        | 32.00         | 97.78               |              |
| 5  | MRFL08      | SA 5-1      | SA         | 5          | 25               | 23.04           | 22.43            | 22.29               | 96.77               | 59.85        | 59.00         | 97.99               |              |
| 6  | MRFL09      | SA 5-3      | SA         | 5          | 25               | 151.69          | 147.49           | 146.61              | 96.65               | 393.37       | 382.00        | 98.06               |              |
| 7  | MRFL13      | SA 10-1     | SA         | 10         | 25               | 29.25           | 28.48            | 28.27               | 96.66               | 76.06        | 74.00         | 97.89               |              |
| 8  | MRFL14      | SA 10-2     | SA         | 10         | 25               | 26.17           | 25.50            | 25.34               | 96.83               | 68.35        | 67.00         | 97.59               |              |
| 9  | MRFL15      | SA 10-3     | SA         | 10         | 25               | 31.92           | 31.03            | 30.78               | 96.42               | 82.79        | 81.00         | 98.02               |              |
| 10 | MRFL19      | SA 15-1     | SA         | 15         | 25               | 25.73           | 25.07            | 24.78               | 96.33               | 66.85        | 66.00         | 98.00               |              |
| 11 | MRFL20      | SA 15-2     | SA         | 15         | 25               | 24.81           | 24.10            | 23.72               | 95.60               | 64.21        | 63.00         | 98.03               |              |
| 12 | MRFL21      | SA 15-3     | SA         | 15         | 25               | 29.09           | 28.32            | 28.07               | 96.49               | 75.49        | 75.00         | 98.04               |              |
| 13 | MRFL61      | SA 19-1     | SA         | 19         | 25               | 26.68           | 25.90            | 25.70               | 96.33               | 69.06        | 67.00         | 98.04               |              |
| 14 | MRFL62      | SA 19-2     | SA         | 19         | 25               | 46.63           | 45.31            | 44.80               | 96.08               | 120.84       | 120.00        | 97.97               |              |
| 15 | MRFL63      | SA 19-3     | SA         | 19         | 25               | 24.56           | 23.85            | 23.69               | 96.46               | 63.86        | 63.00         | 97.66               |              |
| 16 | MRFL05      | TSA 1-1     | TSA        | 1          | 30               | 36.09           | 35.09            | 34.85               | 96.57               | 93.92        | 92.00         | 97.70               |              |
| 17 | MRFL88      | TSA 1-2     | TSA        | 1          | 30               | 37.68           | 35.80            | 35.07               | 93.05               | 94.42        | 90.00         | 98.11               |              |
| 18 | MRFL07      | TSA 1-3     | TSA        | 1          | 30               | 25.95           | 25.11            | 24.96               | 96.21               | 67.31        | 67.00         | 97.58               |              |
| 19 | MRFL10      | TSA 5-1     | TSA        | 5          | 30               | 34.10           | 33.21            | 32.98               | 96.72               | 88.85        | 88.00         | 97.76               |              |
| 20 | MRFL11      | TSA 5-2     | TSA        | 5          | 30               | 27.20           | 26.33            | 26.13               | 96.04               | 70.31        | 68.00         | 97.86               |              |
| 21 | MRFL12      | TSA 5-3     | TSA        | 5          | 30               | 31.68           | 30.84            | 30.65               | 96.75               | 82.64        | 84.00         | 97.63               |              |
| 22 | MRFL16      | TSA 10-1    | TSA        | 10         | 30               | 45.30           | 43.93            | 43.64               | 96.33               | 117.23       | 116.00        | 97.98               |              |
| 23 | MRFL17      | TSA 10-2    | TSA        | 10         | 30               | 24.01           | 23.34            | 23.14               | 96.38               | 62.30        | 61.00         | 97.96               |              |
| 24 | MRFL102     | TSA 10-3    | TSA        | 10         | 30               | 42.63           | 42.63            | 42.61               | 99.95               | 53.58        | 54.00         | 98.01               |              |
| 25 | MRFL22      | TSA 15-1    | TSA        | 15         | 30               | 28.86           | 28.06            | 27.59               | 95.59               | 74.74        | 73.00         | 98.05               |              |
| 26 | MRFL23      | TSA 15-2    | TSA        | 15         | 30               | 16.44           | 16.03            | 15.77               | 95.89               | 42.78        | 40.00         | 97.91               |              |
| 27 | MRFL24      | TSA 15-3    | TSA        | 15         | 30               | 40.44           | 39.12            | 38.49               | 95.18               | 104.25       | 98.00         | 98.03               |              |
| 28 | MRFL64      | TSA 19-1    | TSA        | 19         | 30               | 28.83           | 28.09            | 27.84               | 96.59               | 75.24        | 75.00         | 97.67               |              |
| 29 | MRFL65      | TSA 19-2    | TSA        | 19         | 30               | 29.05           | 28.33            | 28.08               | 96.65               | 75.90        | 74.00         | 97.59               |              |
| 30 | MRFL66      | TSA 19-3    | TSA        | 19         | 30               | 31.64           | 30.70            | 30.44               | 96.19               | 82.17        | 81.00         | 97.69               |              |
| 31 | MRFL25      | SV 1-1      | SV         | 1          | 25               | 31.81           | 30.82            | 30.59               | 96.17               | 82.16        | 80.00         | 98.06               |              |
| 32 | MRFL87      | SV 1-2      | SV         | 1          | 25               | 49.03           | 47.60            | 47.23               | 96.34               | 126.84       | 120.00        | 98.08               |              |
| 33 | MRFL27      | SV 1-3      | SV         | 1          | 25               | 236.31          | 229.94           | 227.62              | 96.32               | 611.98       | 596.00        | 98.14               |              |
| 34 | MRFL90      | SV 5-1      | SV         | 5          | 25               | 45.85           | 43.80            | 42.93               | 93.61               | 115.47       | 102.00        | 98.12               |              |
| 35 | MRFL91      | SV 5-2      | SV         | 5          | 25               | 55.21           | 53.01            | 52.19               | 94.53               | 140.07       | 133.00        | 98.10               |              |
| 36 | MRFL82      | SV 5-3      | SV         | 5          | 25               | 25.21           | 24.46            | 24.26               | 96.24               | 65.51        | 62.00         | 97.66               |              |
| 37 | MRFL39      | SV 10-1     | SV         | 10         | 25               | 37.02           | 35.98            | 35.71               | 96.45               | 96.01        | 93.00         | 97.93               |              |
| 38 | MRFL41      | SV 10-2     | SV         | 10         | 25               | 59.79           | 58.01            | 57.53               | 96.21               | 154.46       | 151.00        | 98.10               |              |
| 39 | MRFL42      | SV 10-3     | SV         | 10         | 25               | 25.02           | 24.32            | 24.16               | 96.53               | 65.10        | 63.00         | 97.64               |              |
| 40 | MRFL47      | SV 15-1     | SV         | 15         | 25               | 25.52           | 24.73            | 24.40               | 95.61               | 66.13        | 64.00         | 97.64               |              |
| 41 | MRFL48      | SV 15-2     | SV         | 15         | 25               | 28.25           | 27.40            | 27.10               | 95.94               | 73.28        | 74.00         | 97.62               |              |
| 42 | MRFL49      | SV 15-3     | SV         | 15         | 25               | 19.01           | 18.50            | 18.34               | 96.51               | 49.59        | 48.00         | 97.54               |              |
| 43 | MRFL94      | SV 19-1     | SV         | 19         | 25               | 59.18           | 56.73            | 55.90               | 94.45               | 150.10       | 142.00        | 98.08               |              |
| 44 | MRFL95      | SV 19-2     | SV         | 19         | 25               | 64.24           | 61.63            | 60.65               | 94.41               | 162.76       | 157.00        | 98.12               |              |
| 45 | MRFL96      | SV 19-3     | SV         | 19         | 25               | 55.25           | 52.62            | 51.38               | 93.00               | 138.64       | 131.00        | 98.08               |              |
| 46 | MRFL28      | TSV 1-1     | TSV        | 1          | 30               | 30.17           | 29.42            | 28.96               | 95.97               | 78.42        | 75.00         | 98.04               |              |
| 47 | MRFL29      | TSV 1-2     | TSV        | 1          | 30               | 137.80          | 133.38           | 131.31              | 95.29               | 354.84       | 370.00        | 97.95               |              |
| 48 | MRFL30      | TSV 1-3     | TSV        | 1          | 30               | 35.61           | 34.68            | 34.44               | 96.71               | 92.81        | 95.00         | 97.68               |              |
| 49 | MRFL36      | TSV 5-1     | TSV        | 5          | 30               | 33.84           | 32.90            | 32.59               | 96.30               | 87.86        | 89.00         | 97.88               |              |
| 50 | MRFL37      | TSV 5-2     | TSV        | 5          | 30               | 25.00           | 24.22            | 23.89               | 95.57               | 64.63        | 64.00         | 97.92               |              |
| 51 | MRFL38      | TSV 5-3     | TSV        | 5          | 30               | 29.24           | 28.32            | 27.98               | 95.71               | 75.61        | 76.00         | 97.87               |              |
| 52 | MRFL44      | TSV 10-1    | TSV        | 10         | 30               | 29.42           | 28.52            | 28.24               | 95.99               | 76.21        | 75.00         | 97.76               |              |
| 53 | MRFL45      | TSV 10-2    | TSV        | 10         | 30               | 24.11           | 23.36            | 23.13               | 95.96               | 62.40        | 62.00         | 97.73               |              |
| 54 | MRFL46      | TSV 10-3    | TSV        | 10         | 30               | 24.66           | 23.77            | 23.42               | 94.96               | 63.33        | 63.00         | 97.99               |              |
| 55 | MRFL92      | TSV 15-1    | TSV        | 15         | 30               | 47.27           | 45.34            | 44.64               | 94.44               | 119.92       | 117.00        | 98.08               |              |
| 56 | MRFL51      | TSV 15-2    | TSV        | 15         | 30               | 24.40           | 23.69            | 23.47               | 96.19               | 63.40        | 62.00         | 97.67               |              |
| 57 | MRFL93      | TSV 15-3    | TSV        | 15         | 30               | 62.24           | 59.47            | 58.64               | 94.22               | 157.42       | 155.00        | 98.07               |              |
| 58 | MRFL97      | TSV 19-1    | TSV        | 19         | 30               | 49.90           | 47.94            | 47.33               | 94.86               | 126.96       | 128.00        | 98.05               |              |
| 59 | MRFL98      | TSV 19-2    | TSV        | 19         | 30               | 55.90           | 53.64            | 52.94               | 94.70               | 142.12       | 140.00        | 97.98               |              |
| 60 | MRFL58      | TSV 19-3    | TSV        | 19         | 30               | 62.80           | 60.97            | 60.46               | 96.27               | 162.81       | 160.00        | 97.88               |              |
|    |             |             |            |            |                  | <b>Average</b>  | <b>41.77</b>     | <b>40.48</b>        | <b>39.98</b>        | <b>95.65</b> | <b>106.79</b> | <b>103.95</b>       | <b>97.89</b> |
|    |             |             |            |            |                  | <b>Minimum</b>  | <b>16.44</b>     | <b>16.03</b>        | <b>15.77</b>        | <b>87.40</b> | <b>42.78</b>  | <b>29.00</b>        | <b>97.51</b> |
|    |             |             |            |            |                  | <b>Maximum</b>  | <b>236.31</b>    | <b>229.94</b>       | <b>227.62</b>       | <b>99.95</b> | <b>611.98</b> | <b>596.00</b>       | <b>98.14</b> |

## **Acknowledgement/fundings:**

This research was funded by INRAE Plant health and Environment division, the Nouvelle Aquitaine Region, France (Exchange project: N°2020-8664610) and the IdEX Bordeaux University "Investments for the Future" program / GPR Bordeaux Plant Sciences. Sequencing was performed by the GenomEast platform, a member of the 'France Genomique' consortium (ANR-10-INBS-0009).

## **Data Availability Statement**

#data repository (prévoir de le faire). Raw reads are available on the NCBI Sequence Read Archive under the bioproject (xxx).

## **Author contributions**

Funding acquisition and project administration: MFO. Conceptualization and design of the experiments: AV, MFO. Carrying out the experiments: AV, MM. Data analyses: AV, TD, MFO. Writing, reviewing and editing the manuscript: AV, TD and MFO. All authors read and approved the final manuscript.



## Bibliography

- Abyzov, A., Urban, A. E., Snyder, M., & Gerstein, M. (2011). CNVnator: An approach to discover, genotype, and characterize typical and atypical CNVs from family and population genome sequencing. *Genome Research*, *21*(6), 974–984. <https://doi.org/10.1101/gr.114876.110>
- Alisaac, E., & Mahlein, A.-K. (2023). Fusarium Head Blight on Wheat: Biology, Modern Detection and Diagnosis and Integrated Disease Management. *Toxins*, *15*(3), 192. <https://doi.org/10.3390/toxins15030192>
- Amaradasa, B. S., & Everhart, S. E. (2016). Effects of Sublethal Fungicides on Mutation Rates and Genomic Variation in Fungal Plant Pathogen, *Sclerotinia sclerotiorum*. *PLOS ONE*, *11*(12), e0168079. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168079>
- Ballu, A., Deredec, A., Walker, A.-S., & Carpentier, F. (2021). Are Efficient-Dose Mixtures a Solution to Reduce Fungicide Load and Delay Evolution of Resistance? An Experimental Evolutionary Approach. *Microorganisms*, *9*(11), 2324. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112324>
- Ballu, A., Despréaux, P., Duplaix, C., Dérédec, A., Carpentier, F., & Walker, A.-S. (2023). Antifungal alternation can be beneficial for durability but at the cost of generalist resistance. *Communications Biology*, *6*(1), 180. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04550-6>
- Bao, W., Kojima, K. K., & Kohany, O. (2015). Repbase Update, a database of repetitive elements in eukaryotic genomes. *Mobile DNA*, *6*(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s13100-015-0041-9>
- Bezmenova, A. V., Zvyagina, E. A., Fedotova, A. V., Kasianov, A. S., Neretina, T. V., Penin, A. A., Bazykin, G. A., & Kondrashov, A. S. (2020). Rapid Accumulation of Mutations in Growing Mycelia of a Hypervariable Fungus *Schizophyllum commune*. *Molecular Biology and Evolution*, *37*(8), 2279–2286. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa083>
- Blanquart, F., Kaltz, O., Nuismer, S. L., & Gandon, S. (2013). A practical guide to measuring local adaptation. *Ecology Letters*, *16*(9), 1195–1205. <https://doi.org/10.1111/ele.12150>
- Carolus, H., Pierson, S., Muñoz, J. F., Suboti, A., & Dijck, P. V. (2021). *Genome-Wide Analysis of Experimentally Evolved Candida auris Reveals Multiple Novel Mechanisms of Multidrug Resistance*. *12*(2).
- Cingolani, P., Platts, A., Wang, L. L., Coon, M., Nguyen, T., Wang, L., Land, S. J., Lu, X., & Ruden, D. M. (2012). A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w<sup>1118</sup>; iso-2; iso-3. *Fly*, *6*(2), 80–92. <https://doi.org/10.4161/fly.19695>
- Cowen, L. E., Sanglard, D., Calabrese, D., Sirjusingh, C., Anderson, J. B., & Kohn, L. M. (2000). Evolution of Drug Resistance in Experimental Populations of *Candida albicans*. *Journal of Bacteriology*, *182*(6), 1515–1522. <https://doi.org/10.1128/JB.182.6.1515-1522.2000>
- Croll, D., Lendenmann, M. H., Stewart, E., & McDonald, B. A. (2015). The Impact of Recombination Hotspots on Genome Evolution of a Fungal Plant Pathogen. *Genetics*, *201*(3), 1213–1228. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.180968>

- Cumagun, C. J. R., & Miedaner, T. (2004). Segregation for aggressiveness and deoxynivalenol production of a population of *Gibberella zeae* causing head blight of wheat. *European Journal of Plant Pathology*, *110*(8), 789–799. <https://doi.org/10.1007/s10658-004-0895-z>
- Cuomo, C. A., Güldener, U., Xu, J.-R., Trail, F., Turgeon, B. G., Di Pietro, A., Walton, J. D., Ma, L.-J., Baker, S. E., Rep, M., Adam, G., Antoniw, J., Baldwin, T., Calvo, S., Chang, Y.-L., DeCaprio, D., Gale, L. R., Gnerre, S., Goswami, R. S., ... Kistler, H. C. (2007). The *Fusarium graminearum* Genome Reveals a Link Between Localized Polymorphism and Pathogen Specialization. *Science*, *317*(5843), 1400–1402. <https://doi.org/10.1126/science.1143708>
- Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C. A., Banks, E., DePristo, M. A., Handsaker, R. E., Lunter, G., Marth, G. T., Sherry, S. T., McVean, G., Durbin, R., & 1000 Genomes Project Analysis Group. (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, *27*(15), 2156–2158. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr330>
- Danecek, P., Bonfield, J. K., Liddle, J., Marshall, J., Ohan, V., Pollard, M. O., Whitwham, A., Keane, T., McCarthy, S. A., Davies, R. M., & Li, H. (2021). Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience*, *10*(2), giab008. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab008>
- Desjardins, A. E., & Proctor, R. H. (2007). Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, *119*(1–2), 47–50. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.024>
- Dong, S., Raffaele, S., & Kamoun, S. (2015). The two-speed genomes of filamentous pathogens: Waltz with plants. *Current Opinion in Genetics & Development*, *35*, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2015.09.001>
- Drenth, A., McTaggart, A. R., & Wingfield, B. D. (2019). Fungal clones win the battle, but recombination wins the war. *IMA Fungus*, *10*(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s43008-019-0020-8>
- Dumartinet, T., Abadie, C., Bonnot, F., Carreel, F., Roussel, V., Habas, R., Martinez, R. T., Perez-Vicente, L., & Carlier, J. (2020). Pattern of local adaptation to quantitative host resistance in a major pathogen of a perennial crop. *Evolutionary Applications*, *13*(4), 824–836. <https://doi.org/10.1111/eva.12904>
- Gaboriaud, J., & Wu, P.-Y. (2019). Insights into the Link between the Organization of DNA Replication and the Mutational Landscape. *Genes*, *10*(4), 252. <https://doi.org/10.3390/genes10040252>
- Gambhir, N., Kamvar, Z. N., Higgins, R., Amaradasa, B. S., & Everhart, S. E. (2021). Spontaneous and Fungicide-Induced Genomic Variation in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, *111*(1), 160–169. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-20-0471-FI>
- Gostinčar, C., Stajich, J. E., Kežar, A., Sinha, S., Nislow, C., Lenassi, M., & Gunde-Cimerman, N. (2021). Seven Years at High Salinity—Experimental Evolution of the Extremely Halotolerant Black Yeast *Hortaea werneckii*. *Journal of Fungi*, *7*(9), 723. <https://doi.org/10.3390/jof7090723>
- Gutiérrez-Alonso, O., Hawkins, N. J., Cools, H. J., Shaw, M. W., & Fraaije, B. A. (2017). Dose-dependent selection drives lineage replacement during the experimental evolution of

- SDHI fungicide resistance in *Zymoseptoria tritici*. *Evolutionary Applications*, 10(10), 1055–1066. <https://doi.org/10.1111/eva.12511>
- Harris, L. J., Balcerzak, M., Johnston, A., Schneiderman, D., & Ouellet, T. (2016). Host-preferential *Fusarium graminearum* gene expression during infection of wheat, barley, and maize. *Fungal Biology*, 120(1), 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.10.010>
- Hiltunen, M., Grudzinska-Sterno, M., Wallerman, O., Ryberg, M., & Johannesson, H. (2019). Maintenance of High Genome Integrity over Vegetative Growth in the Fairy-Ring Mushroom *Marasmius oreades*. *Current Biology*, 29(16), 2758–2765.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.07.025>
- Hooft, J. M., & Bureau, D. P. (2021). Deoxynivalenol: Mechanisms of action and its effects on various terrestrial and aquatic species. *Food and Chemical Toxicology*, 157, 112616. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112616>
- Jallet, A. J., Le Rouzic, A., & Genissel, A. (2020). Evolution and Plasticity of the Transcriptome Under Temperature Fluctuations in the Fungal Plant Pathogen *Zymoseptoria tritici*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 573829. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.573829>
- Jeon, J., Choi, J., Lee, G.-W., Dean, R. A., & Lee, Y.-H. (2013). Experimental Evolution Reveals Genome-Wide Spectrum and Dynamics of Mutations in the Rice Blast Fungus, *Magnaporthe oryzae*. *PLoS ONE*, 8(5), e65416. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065416>
- Johnson, N. C., Wilson, G. W. T., Bowker, M. A., Wilson, J. A., & Miller, R. M. (2010). Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(5), 2093–2098. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906710107>
- Kelly, A. C., & Ward, T. J. (2018). Population genomics of *Fusarium graminearum* reveals signatures of divergent evolution within a major cereal pathogen. *PLOS ONE*, 13(3), e0194616. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194616>
- King, R., Urban, M., Hammond-Kosack, M. C. U., Hassani-Pak, K., & Hammond-Kosack, K. E. (2015). The completed genome sequence of the pathogenic ascomycete fungus *Fusarium graminearum*. *BMC Genomics*, 16(1), 544. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1756-1>
- Koboldt, D. C., Zhang, Q., Larson, D. E., Shen, D., McLellan, M. D., Lin, L., Miller, C. A., Mardis, E. R., Ding, L., & Wilson, R. K. (2012). VarScan 2: Somatic mutation and copy number alteration discovery in cancer by exome sequencing. *Genome Research*, 22(3), 568–576. <https://doi.org/10.1101/gr.129684.111>
- Kronholm, I., Ormsby, T., McNaught, K. J., Selker, E. U., & Ketola, T. (2020). Marked *Neurospora crassa* Strains for Competition Experiments and Bayesian Methods for Fitness Estimates. *G3 Genes/Genomes/Genetics*, 10(4), 1261–1270. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400632>
- Kudryavtseva, O. A., Gerasimov, E. S., Glagoleva, E. S., Gasparyan, A. A., Agroskin, S. M., Belozersky, M. A., & Dunaevsky, Y. E. (2023). Dynamics of *Podospora anserina* Genome Evolution in a Long-Term Experiment. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(15), 12009. <https://doi.org/10.3390/ijms241512009>

- Laurent, B., Moinard, M., Spataro, C., Ponts, N., Barreau, C., & Foulongne-Oriol, M. (2017). Landscape of genomic diversity and host adaptation in *Fusarium graminearum*. *BMC Genomics*, *18*(1), 203. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3524-x>
- Laurent, B., Palaiokostas, C., Spataro, C., Moinard, M., Zehraoui, E., Houston, R. D., & Foulongne-Oriol, M. (2018). High-resolution mapping of the recombination landscape of the phytopathogen *Fusarium graminearum* suggests two-speed genome evolution. *Molecular Plant Pathology*, *19*(2), 341–354. <https://doi.org/10.1111/mpp.12524>
- Leplat, J., Friberg, H., Abid, M., & Steinberg, C. (2013). Survival of *Fusarium graminearum*, the causal agent of Fusarium head blight. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *33*(1), 97–111. <https://doi.org/10.1007/s13593-012-0098-5>
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (Eds.). (2006). The *Fusarium Laboratory Manual* (pp. i–xii). Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1002/9780470278376.fmatter>
- Liao, Y., Peng, Z., Chen, L., Nüssler, A. K., Liu, L., & Yang, W. (2018). Deoxynivalenol, gut microbiota and immunotoxicity: A potential approach? *Food and Chemical Toxicology*, *112*, 342–354. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.013>
- Ma, L.-J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D. M., Manners, J. M., & Kazan, K. (2013). *Fusarium* Pathogenomics. *Annual Review of Microbiology*, *67*(1), 399–416. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155650>
- Pan, D., Mionetto, A., Calero, N., Reynoso, M. M., Torres, A., & Bettucci, L. (2016). Population genetic analysis and trichothecene profiling of *Fusarium graminearum* from wheat in Uruguay. *Genetics and Molecular Research*, *15*(1). <https://doi.org/10.4238/gmr.15017270>
- Pierzgalski, A., Bryła, M., Kanabus, J., Modrzewska, M., & Podolska, G. (2021). Updated Review of the Toxicity of Selected *Fusarium* Toxins and Their Modified Forms. *Toxins*, *13*(11), 768. <https://doi.org/10.3390/toxins13110768>
- Raffaele, S., Farrer, R. A., Cano, L. M., Studholme, D. J., MacLean, D., Thines, M., Jiang, R. H. Y., Zody, M. C., Kunjeti, S. G., Donofrio, N. M., Meyers, B. C., Nusbaum, C., & Kamoun, S. (2010). Genome Evolution Following Host Jumps in the Irish Potato Famine Pathogen Lineage. *Science*, *330*(6010), 1540–1543. <https://doi.org/10.1126/science.1193070>
- Sbeiti, A. A. L., Mazurier, M., Ben, C., Rickauer, M., & Gentzbittel, L. (2023). Temperature increase modifies susceptibility to *Verticillium* wilt in *Medicago* spp and may contribute to the emergence of more aggressive pathogenic strains. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1109154. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1109154>
- Smit, A., Hubley, R., & Green, P. (2013). *RepeatMasker Open-4.0* [Computer software]. <http://www.repeatmasker.org>
- Sobrova, P., Adam, V., Vasatkova, A., Beklova, M., Zeman, L., & Kizek, R. (2010). Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisciplinary Toxicology*, *3*(3). <https://doi.org/10.2478/v10102-010-0019-x>
- Talas, F., & McDonald, B. A. (2015). Genome-wide analysis of *Fusarium graminearum* field populations reveals hotspots of recombination. *BMC Genomics*, *16*(1), 996. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2166-0>

- Talas, F., Wuerschum, T., Reif, J. C., Parzies, H. K., & Miedaner, T. (2012). Association of single nucleotide polymorphic sites in candidate genes with aggressiveness and deoxynivalenol production in *Fusarium graminearum* causing wheat head blight. *BMC Genetics*, *13*(1), 14. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-14>
- Trail, F. (2009). For Blighted Waves of Grain: *Fusarium graminearum* in the Postgenomics Era. *Plant Physiology*, *149*(1), 103–110. <https://doi.org/10.1104/pp.108.129684>
- Valero-Jiménez, C. A., Van Kan, J. A. L., Koenraadt, C. J. M., Zwaan, B. J., & Schoustra, S. E. (2017). Experimental evolution to increase the efficacy of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against malaria mosquitoes: Effects on mycelial growth and virulence. *Evolutionary Applications*, *10*(5), 433–443. <https://doi.org/10.1111/eva.12451>
- Vaughan, M., Backhouse, D., & Ponte, E. M. D. (2016). Climate change impacts on the ecology of *Fusarium graminearum* species complex and susceptibility of wheat to *Fusarium* head blight: A review. *World Mycotoxin Journal*, *9*(5), 685–700. <https://doi.org/10.3920/WMJ2016.2053>
- Voss, H.-H., Bowden, R. L., Leslie, J. F., & Miedaner, T. (2010). Variation and Transgression of Aggressiveness Among Two *Gibberella zeae* Crosses Developed from Highly Aggressive Parental Isolates. *Phytopathology*®, *100*(9), 904–912. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-9-0904>
- Walter, S., Nicholson, P., & Doohan, F. M. (2010). Action and reaction of host and pathogen during *Fusarium* head blight disease. *New Phytologist*, *185*(1), 54–66. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03041.x>
- Ward, T. J., Bielawski, J. P., Kistler, H. C., Sullivan, E., & O'Donnell, K. (2002). Ancestral polymorphism and adaptive evolution in the trichothecene mycotoxin gene cluster of phytopathogenic *Fusarium*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *99*(14), 9278–9283. <https://doi.org/10.1073/pnas.142307199>
- Ward, T. J., Clear, R. M., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Gaba, D., Patrick, S., Starkey, D. E., Gilbert, J., Geiser, D. M., & Nowicki, T. W. (2008). An adaptive evolutionary shift in *Fusarium* head blight pathogen populations is driving the rapid spread of more toxigenic *Fusarium graminearum* in North America. *Fungal Genetics and Biology*, *45*(4), 473–484. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2007.10.003>
- Wing, K. M., Phillips, M. A., Baker, A. R., & Burke, M. K. (2020). Consequences of Cryopreservation in Diverse Natural Isolates of *Saccharomyces cerevisiae*. *Genome Biology and Evolution*, *12*(8), 1302–1312. <https://doi.org/10.1093/gbe/evaa121>
- Wittenberg, A. H. J., Van Der Lee, T. A. J., Ben M'Barek, S., Ware, S. B., Goodwin, S. B., Kilian, A., Visser, R. G. F., Kema, G. H. J., & Schouten, H. J. (2009). Meiosis Drives Extraordinary Genome Plasticity in the Haploid Fungal Plant Pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *PLoS ONE*, *4*(6), e5863. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005863>
- Zhou, M., Hu, C., Yin, Y., Wang, J., Ye, S., Yu, Y., Sun, X., & Li, S. (2022). Experimental Evolution of Multidrug Resistance in *Neurospora crassa* under Antifungal Azole Stress. *Journal of Fungi*, *8*(2), 198. <https://doi.org/10.3390/jof8020198>



### 3. Complément d'analyses

Pour marquer le lien entre l'étude de la plasticité phénotypique et l'étude de la plasticité génomique, nous avons réalisé une analyse de la plasticité phénotypique entre les générations évoluées. Pour rappel, la plasticité transgénérationnelle est définie comme les changements dans un caractère spécifique, dans la descendance, induit par les conditions environnementales rencontrées par les ancêtres. C'est un mode de transmission non-génétique<sup>30</sup> et épigénétique par lequel l'expérience d'un environnement par un parent influencera les normes de réactions des descendants. Dans ce contexte, nous nous demandons si la plasticité phénotypique est différente entre les générations. Chaque norme de réaction du caractère TCTB est constituée des 3 lignées, présentée par culture en Figure 19 et l'analyse de variance pour les paramètres de culture (SA/ SV/ TSA/ TSV) et de génération (1 ou 19) en tableau 1. Nous observons que les normes de réaction des deux générations ne sont pas parallèles entre elles et se croisent pour les cultures SA, SV et TSV, il y a donc de la variation de plasticité phénotypique entre les générations. Pour la culture TSA, les normes de réaction ne se croisent pas, nous supposons que la variation phénotypique observée entre les conditions pour chaque génération est liée à une plasticité du génome. Une autre analyse de variance, uniquement pour la culture TSA, démontre qu'il n'y a pas de différence significative entre les générations ( $p=0.08$ ), montrant qu'il n'y a pas de variation de la plasticité phénotypique. Enfin, l'analyse de variance entre tous les modes de cultures (tableau 5) est significative pour l'ensemble des facteurs Génération et Culture et pour l'interaction ( $p<0.05$ ) suggérant de la variation dans la plasticité phénotypique entre les générations pour chaque culture (tableau 6).

Nous venons de démontrer par l'analyse de variance, la présence de plasticité phénotypique entre les générations qui par définition est de la plasticité transgénérationnelle. Les normes de réaction des souches évoluées ont été influencées par l'environnement des souches ancestrales. Le pattern de mutations identifiées en génération 19 (aléatoires, lignées-spécifiques) ne semble pas en lien avec cette observation, et ceci suggère que cette transmission serait sous un déterminisme non-génétique et/ ou épigénétique.

---

<sup>30</sup> Ou hérédité non mendélienne

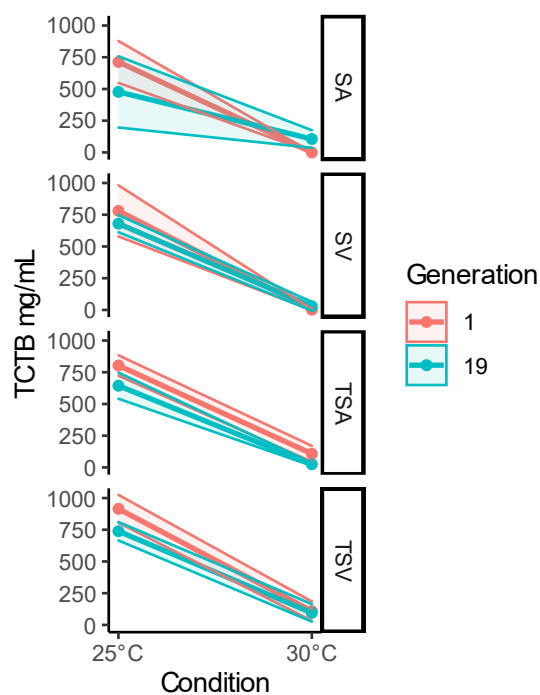


Figure 19 : Normes de réaction entre générations du caractère TCTB pour les quatre cultures.

Tableau 5 : Analyse de variance pour les données de la norme de réaction de la variable TCTB comprenant les facteurs (Génération 1 et 19, Culture SA/SV/TSV), les degrés de libertés (Df), la somme des carrés (Sum Sq), la moyenne des carrés (Mean Sq), la valeur du test F (F value) et la valeur p (Pr(>F)) au seuil de  $\alpha=0.05$ .

|                    | Df | Sum Sq   | Mean Sq  | F value  | Pr(>F)   |
|--------------------|----|----------|----------|----------|----------|
| Culture            | 2  | 6.36E+04 | 3.18E+04 | 6.51E+00 | 3.02E-03 |
| Generation         | 1  | 6.10E+04 | 6.10E+04 | 1.25E+01 | 8.76E-04 |
| Culture:Generation | 2  | 3.79E+04 | 1.89E+04 | 3.88E+00 | 2.71E-02 |
| Residuals          | 51 | 2.49E+05 | 4.88E+03 | NA       | NA       |

Tableau 6 : Statistiques descriptives liées à la plasticité phénotypique de la norme de réaction du caractère TCTB des 103 souches de *F. graminearum*.

| Culture | Génération | Mean±sd       | Min-Max        |
|---------|------------|---------------|----------------|
| SA      | 1          | -142.61±31.44 | -181.62-92     |
| SA      | 19         | 10.27±59.65   | -66.64-108.41  |
| SV      | 1          | -154.35±54.05 | -224.95-37.31  |
| SV      | 19         | -106.98±62.86 | -159.25-79.82  |
| TSA     | 1          | -53.04±76.59  | -153.42-53.68  |
| TSA     | 19         | -104.26±26.45 | -126.94-44.24  |
| TSV     | 1          | -74.46±101.24 | -200.24-39.39  |
| TSV     | 19         | -52.57±82.87  | -122.62-145.03 |



## 4. Conclusion

Les résultats clés de ce chapitre 2 dont l'objectif est de caractériser la dynamique mutationnelle chez *F. graminearum* sont :

- On observe un ralentissement de la croissance, liée à la température, au 1<sup>er</sup> cycle de culture (S1), pour la reproduction végétative et pour la reproduction asexuée. Dès S2, la croissance du champignon à 30°C est similaire à celle à 25°C, mais cette observation ne semble pas se maintenir lors du passage à -80°C.
- Les données phénotypiques des souches ré-évaluées à 25°C et 30°C après passage au froid montrent un effet significatif de la température sur les caractères mais aucune différence selon l'origine des souches, les lignées et les générations.
- Le mode de reproduction asexuée semble montrer une augmentation globale de la production en TCTB de TSA vs SA.
- Concernant l'adaptation locale ( $\Delta HA$ ), le phénotype (TCTB ou AUC) des cultures SA et SV semblent être adaptées à 25°C alors que les cultures TSA et TSV ne semblent pas montrer d'adaptation à 25°C.
- Il semblerait que les populations TSV comparées aux populations SV ( $\Delta FL$ ) issues du 19<sup>ème</sup> cycle par rapport au 1<sup>er</sup> cycle semblent être plus adaptées à la condition locale : 30°C.
- Après un reséquençage de 60 souches évoluées des cycles 0, 1, 5, 10, 15 et 19, huit mutations dont 6 SNPs et 2 Indels ont été retrouvées uniquement au cours des cycles végétatifs.
- On note une variation de plasticité phénotypique au travers de la norme de réaction pour le caractère TCTB entre les générations qui pourrait s'apparenter à de la plasticité transgénérationnelle.

**Discussion générale**  
**Et**  
**Perspectives**

## Discussion générale et perspectives

### 1. La plasticité phénotypique comme agent d'adaptation potentiel de *F. graminearum*

*Rappel de l'hypothèse et des questions* : La plasticité phénotypique est l'une des premières réponses de l'organisme aux changements environnementaux et elle est potentiellement sous déterminisme génétique. Nous avons exploré cette hypothèse chez le champignon phytopathogène et mycotoxinogène *F. graminearum*. Plusieurs questions ont été adressées : Quelle est l'amplitude de la réponse plastique du champignon en fonction de l'environnement, du caractère observé et du génotype ? Quelles souches semblent être plus adaptées à un environnement qu'à un autre ? Quels déterminismes génétiques et moléculaires sous-tendent la plasticité phénotypique ?

Au cours de cette étude, l'approche de génétique quantitative (génétique d'association) utilisée pour étudier la plasticité phénotypique nous a permis de mettre en évidence une plasticité phénotypique à large échelle (Chapitre 1). Pour rappel, nous avons utilisé 103 souches de *F. graminearum* isolées de blé qui ont été entièrement séquencées. La caractérisation de la plasticité phénotypique pour la production en mycotoxine et la croissance a été réalisée *in vitro*, entre une condition témoin et une condition traitée pour quatre environnements différents : température (E1), composante oxydative (E2), disponibilité en eau (E3) et concentration d'azote du milieu (E4). Ces deux types de données, génétiques et phénotypiques, nous ont permis de réaliser un GWAS.

D'abord, nous avons observé de la plasticité phénotypique par décomposition de la variance phénotypique et l'étude de l'interaction GxC, entre les génotypes et les conditions utilisées pour chaque environnement. Dans les quatre environnements étudiés ici, et selon le caractère, la proportion expliquée par la plasticité phénotypique représente jusqu'à 1/3 de la variance phénotypique. Aussi, la significativité de cette interaction démontre que les individus répondent de façon différentielle à une modification de l'environnement. Ensuite, les valeurs issues de la norme de réaction et du coefficient de plasticité nous ont indiqué 3 résultats majeurs : [1] La plasticité phénotypique est variable en fonction des génotypes, de manière dépendante ou indépendante des environnements. Cela nous indique qu'il existe un fond génétique variable lié à l'expression de la plasticité phénotypique. [2] La plasticité phénotypique est variable selon les environnements, sous-tendant qu'un environnement spécifique induit une plasticité phénotypique singulière. [3] La réponse plastique est également dépendante du caractère étudié

selon l'environnement dans lequel il est évalué. L'ensemble de ces résultats nous suggère que la plasticité phénotypique est ubiquitaire et que la variation génotypique observée est probablement sous contrôle génétique chez *F. graminearum*.

#### a) Vers une vision plus holistique de la plasticité phénotypique chez *F. graminearum*

Dans cette partie, nous avons calculé la norme de réaction entre deux conditions en supposant une réponse linéaire entre celles-ci. Cette simplification peut conduire à de possibles erreurs d'interprétation (Gomulkiewicz and Stinchcombe, 2022; Valladares et al., 2006). Afin de donner plus de poids à ces normes de réaction, tester plusieurs conditions par environnement aurait pu aider à construire des normes de réaction polynomiales (Gibert et al., 1998). L'équation de cette nouvelle norme de réaction prendrait plus en compte la plasticité phénotypique entre les conditions expérimentées par l'individu. Ainsi nous pourrions utiliser les coefficients des équations ou l'aire sous les courbes comme des variables explicatives de la plasticité phénotypique. Cependant, le design expérimental nécessaire pour étudier les modifications continues d'un environnement s'avère très vite limitant avec un effectif raisonnable pour envisager de la génétique d'association. On pourrait imaginer refaire l'expérimentation en choisissant un seul environnement mais en étudiant un gradient de conditions (Peltier et al., 2018).

Ensuite, par rapport aux caractères observés, bien que les mycotoxines soient des métabolites d'importance majeure liée à leurs toxicités et à leurs enjeux de sécurité sanitaire et alimentaire, ce ne sont pas les seules molécules pertinentes à suivre. Ce sont de métabolites secondaires, non peptidiques, qui ne sont pas produits par toutes les souches<sup>31</sup>, et dont les mécanismes régissant la régulation de la production dans différents environnements sont complexes. Dans l'apport supplémentaire n°2 de données (Chapitre 1-b Occurrence de signaux métaboliques sur les chromatogrammes d'HPLC), des signaux inconnus ont été observés sur les chromatogrammes, nous indiquant que d'autres probables métabolites sont produits et quantifiables. Il ne s'agit là que des signaux les plus importants et persistants d'une souche à l'autre permettant l'étude de la plasticité phénotypique. Ici, nous avons montré que la part de variance expliquée par la condition est faible (quel que soit l'environnement) et qu'une part de la variance expliquée par le génotype très importante (quel que soit l'environnement), en

---

<sup>31</sup> Dans nos conditions expérimentales.

comparaison aux variables des phénotypes toxine. La production de ces métabolites serait moins liée aux variations de l'environnement et plus sous déterminisme génétique. En outre, quel que soit le signal et l'environnement observé la variance phénotypique expliquée par le GxC varie de 0.07 à 0.24, similaire à ce qui a été noté pour l'étude du phénotype toxine dans les mêmes environnements. Une question se pose alors : comment expliquer la variation dans l'interaction génotype par environnement observée ? La condition appliquée (température ou oxydative) n'influencerait pas directement la production de ces signaux mais serait impliquée dans la production d'autres métabolites intermédiaires (primaires ou secondaires) qui influenceraient les signaux observés. Une hypothèse serait que la plasticité de certains caractères peut augmenter ou diminuer l'expression d'un autre caractère. Un signal environnemental va entraîner la plasticité d'un ou plusieurs caractères, modifiant subséquemment l'environnement proche de l'organisme (action autocrine ou paracrine comme les phéromones chez *F. oxysporum* (Vitale et al., 2019)) induisant de la plasticité pour un ou plusieurs autres caractères (Nielsen et Papaj 2022).

Ces résultats illustrent l'importance de prendre en compte le métabolome dans son ensemble. Il a déjà été démontré chez *F. graminearum* que des variations environnementales induisaient une modification des profils métabolomiques (Atanasova-Penichon et al., 2018). La caractérisation des métabolomes de différentes souches dans plusieurs environnements est aussi l'occasion d'affiner l'étude de la plasticité phénotypique de *F. graminearum* au travers de la plasticité métabolique (Weiszmann et al., 2023). Un projet de métabolite-GWAS (mGWAS) est actuellement en cours au laboratoire (projet WASABI), utilisant la même population de souches (et la même matrice de variants), caractérisées pour leur croissance et la production de mycotoxine sous différentes contraintes azotées (5<sup>ème</sup> environnement, différences dans la source azotée). Il s'agit de détecter et quantifier l'ensemble des métabolites présents dans toutes les souches (polaire, apolaire, dans le mycélium ou excrétés dans le milieu). Un triple objectif se dessine ici : la réalisation d'un core-métabolome et une métabolome accessoire (1) (sur l'idée du pangénome (Alouane et al., 2021)) et l'étude des variations génétiques à l'origine de ces métabolites (2). Le projet WASABI pourra mettre en évidence le lien entre plasticité phénotypique et plasticité métabolomique (3) en mettant en avant la stratégie d'optimisation du phénotype employé par *F. graminearum* dans ce contexte de changement de source azotée. Des études de plasticité métabolomique par rapport aux variations de température ont été réalisées chez les plantes (Sun et al., 2016) ainsi qu'une association métabolites-génotypes a été réalisée chez *Z. tritici* (Singh et al., 2022). Ces données représenteront des informations importantes

concernant les voies de signalisation impliquées dans le développement de la fusariose, de la production en mycotoxine et de la croissance de *F. graminearum*.

De manière complémentaire aux études de métabolomique, nous pouvons aussi faire l'hypothèse que la plasticité phénotypique est liée à un recâblage des réseaux de régulation des gènes (Guo et al., 2016). Chez *Z. tritici*, Jallet et al. (2020) ont mis en évidence une plasticité transcriptomique en réponse à une fluctuation de la température. A l'instar de ce qui est envisagé dans le projet WASABI, une caractérisation des transcriptomes des souches comme autant de phénotypes sous différentes contraintes environnementales permettrait d'étayer cette hypothèse au moyen d'une approche par eQTL (Kita et al., 2017; Nica and Dermitzakis, 2013).

#### b) La plasticité phénotypique serait sous un déterminisme génétique (ou non) complexe

L'approche de génétique d'association utilisée ici est une approche standard mais originale pour le modèle, permettant une dissection du génome dans son entièreté. Même si peu de gènes ont retenu notre attention, il semblerait qu'ils soient potentiellement impliqués dans la perception de l'environnement. Il est connu que les gènes qui contrôlent la plasticité phénotypique seraient en lien avec des grandes fonctions régulatrices comme la régulation hormonale ou la date de floraison chez les plantes (Laitinen and Nikoloski, 2019). Afin de confirmer l'implication des gènes retrouvés ici, nous pourrions envisager une étude de génétique inverse. Par exemple, nous avons retrouvé 3 SNPs en déséquilibre de liaison associé à la plasticité phénotypique du DON (2 intégrales membranes et 1 lipase partial) où l'haplotype constitué des trois SNPs confère une différence significative dans la plasticité phénotypique. Afin de montrer l'impact de l'haplotype sur la plasticité phénotypique, nous pourrions envisager de réaliser des mutants de certaines souches. Aussi, afin de démontrer s'il y existe des variations dans la plasticité phénotypique induites par les différences d'haplotypes possibles, nous pourrions envisager d'obtenir des souches mutantes pour chaque SNPs de manière indépendante. Nous aurions les 8 haplotypes<sup>32</sup> différents.

Outre le modèle épistatique d'architecture génétique de la plasticité phénotypique présenté dans l'article du chapitre 1, selon le nombre de gènes/ SNPs retrouvés (par rapport à d'autres études chez les plantes par exemple) d'autres possibilités d'architecture génétique ou épigénétique

---

<sup>32</sup> Les 8 haplotypes sont : 0\_0\_0/ 0\_0\_1/ 0\_1\_0/ 0\_1\_1/ 1\_0\_0/ 1\_1\_0/ 1\_0\_1/ 1\_1\_1

peuvent être envisagées. Par exemple, nous pourrions faire l'hypothèse que l'architecture moléculaire de la plasticité phénotypique vient en partie de l'édition des ARN messagers. L'édition d'ARN messagers est une modification post-transcriptionnelle convertissant l'adénosine en inosine par une désamination hydrolytique ou d'une cytidine en uridine. C'est une modification connue chez les champignons (Bian et al., 2019) et chez *F. graminearum* (H. Liu et al., 2016) en particulier. Ce sont des modifications intervenant majoritairement pendant la reproduction sexuée induisant un changement d'acides aminés lors de la traduction pour 2/3 des éditions. Cette source de variation dans les ARN messagers semble être importante pour la variation phénotypique du champignon en augmentant la diversité protéomique, d'autant que *F. graminearum* est capable de reproduction sexuée au champ. Une expérience de séquençage d'ARN nous permettrait d'évaluer l'importance de ce phénomène entre nos différentes conditions, appuyé par des modifications de phénotype. Du point de vue épigénétique, nous pourrions réaliser des mutants de certaines cibles épigénétiques comme cela a déjà été réalisé chez *Neurospora crassa* (Kronholm et al. 2016) ainsi que chez *Fusarium* pour la marque H3K27me3 modifiant l'expression de certains gènes en fonction de l'environnement (Moser Tralamazza et al., 2022).

### c) La plasticité phénotypique jouerait un rôle dans la relation hôte pathogène

Jusqu'à présent, l'étude s'est concentrée sur la réponse phénotypique et plastique de *F. graminearum* en condition de culture *in vitro*, en tant qu'étude pilote de la plasticité phénotypique chez ce champignon phytopathogène. Pour chaque expérience, nous avons inoculé des spores issues de la reproduction asexuée dans un milieu minimum. D'une part, l'étude d'autres caractères tels que la capacité de sporulation (asexuée) ou sexuée sont des paramètres importants à considérer afin d'estimer le fitness des souches dans les différents environnements. D'autre part, dans le contexte de la fusariose de l'épi, le milieu minimum utilisé pour les analyses *in vitro* est largement différent de celui rencontré lors de l'infection. La plante produit des molécules plus complexes et en quantités plus importantes pouvant induire des réponses phénotypiques différentes (Droce et al., 2017; Guenther et al., 2009). D'ailleurs, une étude antérieure a montré que le métabolome du blé est modifié lors de l'infection par *F. graminearum* (Lowe et al., 2010), et ces métabolites pourraient induire de multiples réponses plastiques chez *F. graminearum*.

Nous avons étudié différents environnements en lien avec le changement climatique (température, disponibilité en eau), la réponse de la plante à l'infection (oxydatif, qui est aussi une réponse de la plante au changement climatique) et les pratiques culturales au champ (concentration en azote). Bien que notre étude ait été réalisée en laboratoire *in vitro*, ces différents environnements peuvent être replacés dans le cycle infectieux de *F. graminearum* (Figure 19). En effet, la température et la disponibilité en eau sont des facteurs importants liés à la survie des spores au cours de l'hiver sur les résidus de cultures, à l'infection et la germination au niveau des épillets et au moment du stockage des grains de blé. La concentration en azote, apportée par exemple par des engrais, pourrait influencer la germination des spores et l'infection du blé. Cette même concentration en azote mais aussi des sources différentes (via les acides aminés) est aussi retrouvée modulée dans le grain par rapport à une augmentation de la température (Wang et al., 2019), influençant alors la concentration en mycotoxine. Enfin, la capacité de production de peroxyde d'hydrogène par le blé est un facteur à prendre en compte car il induit la production de DON par *F. graminearum*. La production d'espèces réactives de l'oxygène a été signalée comme étant modulée chez la plante en fonction du changement climatique (Sachdev et al., 2021). Les résultats de notre étude montrent qu'il y a des souches qui ont une capacité toxigène importante quel que soit l'environnement. De même, certaines souches ont une capacité à avoir un phénotype plastique plus important que d'autres ce qui suggère que le champignon peut s'adapter aux conditions changeantes de son environnement pour maximiser son succès infectieux.

Un pas en avant vers la caractérisation de la plasticité phénotypique aurait été de réaliser des cultures *in vitro* sur grains de blé ou sur feuilles détachées ou alors *in planta* afin de récolter des informations sur la virulence des souches dans différents environnements. En effet, la culture *in planta* offre une plus grande variété de microenvironnements (par exemple la température (Yu et al., 2016), ou la compétition avec d'autres microorganismes) par rapport à des cultures *in vitro*. Cela peut permettre d'observer comment la plasticité phénotypique de *F. graminearum* varie en fonction de différents facteurs environnementaux, tels que la variété de la plante hôte, les conditions climatiques, les nutriments, etc. D'autres environnements tels que l'impact du CO<sub>2</sub>, d'une température plus froide ou des rayonnement UV ainsi que la combinaison d'environnements telle que la température avec la disponibilité en eau, *in planta* ou non, seraient autant d'environnements permettant l'étude de la plasticité phénotypique (Alster et al.2021). L'impact du CO<sub>2</sub> (Peter Mshelia et al., 2020), les combinaisons de



différentes températures et de disponibilités en eau (Jiménez et al., 1996; Ramírez Albuquerque et al., 2022, 2021b; Ramirez et al., 2006), ainsi que certaines études *in planta* (Hay et al., 2021; Rossi et al., 2001; Talas et al., 2016) donnent un aperçu du potentiel toxigène et adaptatif de *F. graminearum*. Cependant, l'interprétation des études *in planta* soulèvent également la question de la plasticité de la plante face aux conditions environnementales rencontrées. La plasticité du champignon (et de la plante) est alors envisagée à travers l'étude de la plasticité phénotypique de l'interaction hôte-pathogène (Taylor et al., 2006). Par exemple, l'étude par Talas et al (2016) avait démontré, sur une centaine de souches, une agressivité variable sur le blé évaluée dans diverses conditions climatiques selon les années de récolte. Bien que l'interaction GxE soit significative, cette démonstration soulève la question de la plasticité phénotypique de la plante dans ces différentes conditions ainsi que la plasticité de l'interaction hôte-pathogène.

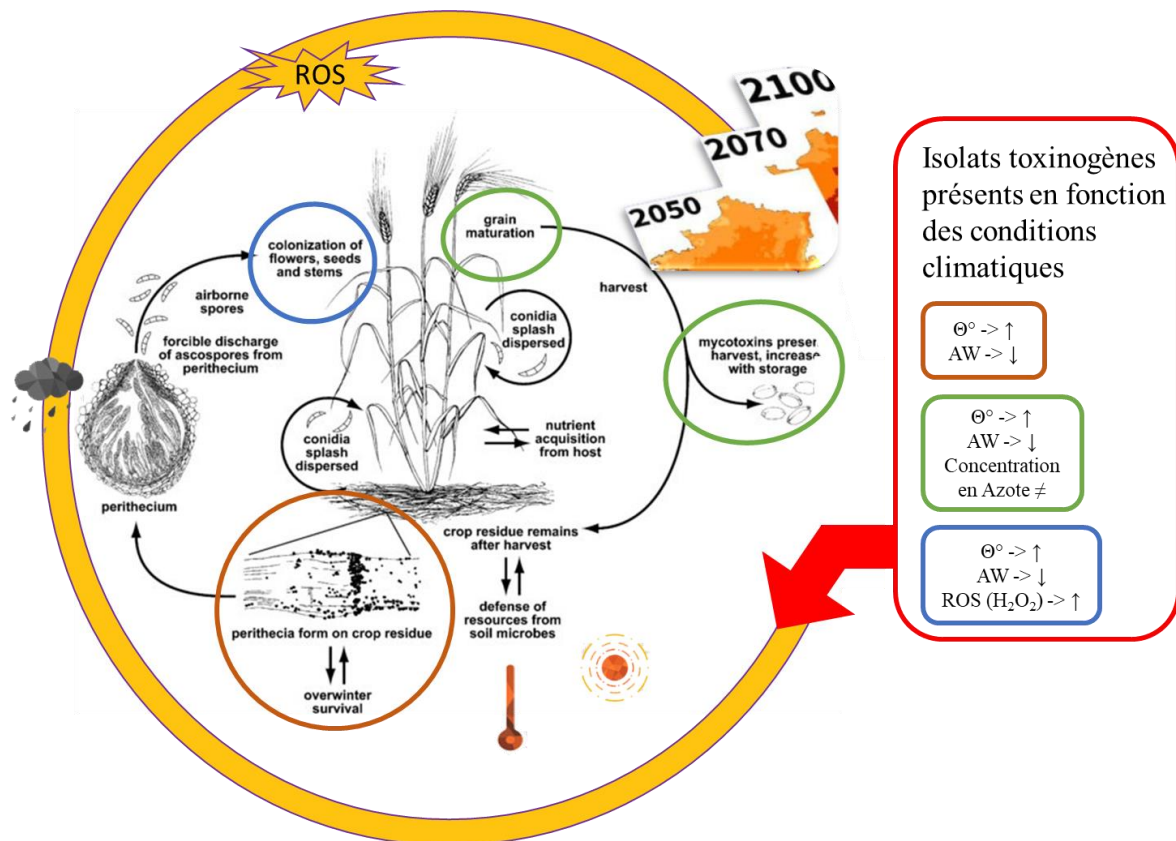


Figure 20 : Les différentes conditions environnementales employées lors de l'étude remis dans le contexte du cycle infectieux de *F. graminearum* et du changement climatique. Quatre environnements sont représentés : la température ( $\Theta^\circ$ ), la disponibilité en eau (AW), le stress oxydatif (ROS ( $H_2O_2$ )), et la concentration en azote. Quel que soit l'environnement étudié, des isolats toxigènes sont retrouvés.

Dans une perspective plus globale, la fusariose de l'épi et la contamination des grains de blé par les mycotoxines ne sont pas causées par une seule espèce fongique mais par un mélange d'espèces de *Fusarium* qui interagissent ensemble. Notamment les espèces *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium tricinctum*, *Fusarium poae*, *Fusarium sporotrichioides* et *Fusarium langsethiae* sont les champignons les plus fréquemment rencontrés en Europe (Aoki et al., 2012; Karlsson et al., 2021). Sur la plante, co-existe aussi un microbiome constitué notamment d'autres champignons et bactéries dont des preuves pour la protection et la résistance aux stress biotiques ou abiotiques du blé ont été apportées. Par exemple, la bactérie *Pseudomonas piscium* produit du phenazine-1-carboxamide qui affecte une histone acétyltransférase chez *F. graminearum*, dérégulant sa croissance (Chen et al., 2022). La plasticité phénotypique de l'interaction de ces espèces en condition d'infection est un objet d'étude primordial pour mieux comprendre l'équilibre des écosystèmes et leur possible évolution (Agrawal, 2001). Nous pouvons nous demander en quoi la capacité à disposer d'un phénotype plastique peut altérer une communauté microbienne ou au contraire lui permettre de s'étendre, et dans notre système augmenter ou diminuer l'infection par *Fusarium*. La littérature rapporte que l'interaction entre une plante et un microorganisme stimule la sécrétion de molécules signalé par les racines attirant d'autres microorganismes induisant une résistance systémique (Goh et al., 2013). Nous pouvons suggérer que l'interaction avec un microorganisme pathogène diminue la fitness de la plante mais induit sa plasticité phénotypique en produisant des molécules impliquées dans la coopération avec d'autres microorganismes, donc atténuant l'impact du stress environnemental. Aussi, le changement de prédominance d'une espèce par rapport à une autre dans la composition des agents induisant la fusariose peut être considéré comme une forme de plasticité phénotypique de la maladie. Des changements d'espèce ont déjà été notés en Europe où *F. graminearum* a remplacé *F. culmorum*, plus adapté aux températures chaudes possédant sans doute une aptitude à la compétition pour envahir la niche écologique, ou des changements de souches plus toxigènes (notamment aux Etats-Unis), probablement dus au changement climatique ou de pratiques agricoles (Miedaner and Juroszek, 2021; Ward et al., 2008).

## 2. La plasticité génomique comme agent d'adaptation potentiel de *F. graminearum*

*Rappel de l'hypothèse et de questions* : La mutation est une des forces évolutives à l'œuvre dans les mécanismes d'adaptation des populations de *F. graminearum* à la suite de modifications de leur environnement. En utilisant un dispositif d'évolution expérimentale, nous avons abordé plusieurs questionnements : Quelle dynamique mutationnelle peut-on observer en fonction des différents modes de propagation chez *F. graminearum* ? Quel est l'impact de l'élévation de la température sur la production de mutations (en nombre, en termes d'annotation fonctionnelle) ? Quelles modifications phénotypiques liées à la croissance et la production en mycotoxines sont observables au cours des cycles ? En quoi la dynamique mutationnelle observée peut contribuer à l'adaptation du champignon ?

Dans le contexte de changement climatique où la hausse de la température est un des facteurs principaux, nous avons décidé de réaliser une étude d'évolution expérimentale où la dynamique mutationnelle a été étudiée sous pression de sélection d'un stress thermique. C'est pourquoi nous avons choisi de réaliser l'expérimentation à 25°C (température optimale (S) de production en mycotoxines au laboratoire) et à 30°C (température suboptimale (TS)) qui seront appliquées à toutes les modalités décrites ci-après. Deux modes de multiplication du champignon ont été choisis : un mode de reproduction asexué (SA/TSA) qui fait référence au mode de dispersion de l'inoculum lors du cycle infectieux de *F. graminearum* ainsi qu'un mode de repiquage de la forme végétative (SV/TSV) du champignon, impliqué dans la croissance sur l'hôte. Trois réplicas ont été suivis en parallèle permettant d'obtenir 3 lignées indépendantes, pendant 19 cycles (de conidie  $n$  à conidie  $n+1$  ou de repiquage  $n$  à repiquage  $n+1$ ). Nous avons obtenu les phénotypes de production de mycotoxines et de croissance sur les 3 lignées pour les deux modes de propagation des cycles 1 et 19, à 25°C et 30°C<sup>33</sup>. Enfin, nous avons reséquéncé le génome de l'ensemble de 60 souches réparties comme suivant : 3 lignées pour les deux modes et température de propagation sur les cycles initiaux (S0 et TS0) et évolués (1<sup>er</sup>, 5<sup>ème</sup>, 10<sup>ème</sup>, 15<sup>ème</sup> et 19<sup>ème</sup>). De faibles différences dans le phénotype de croissance et de production en mycotoxines sont visibles entre les souches des cycles 1 et 19, quel que soit l'environnement dans lequel elles ont évolué. Seules des différences significatives ont été observées entre les

---

<sup>33</sup> Ce sont les conditions de cultures à ne pas confondre avec les conditions utilisées pour faire évoluer les souches (S vs TS).

conditions de culture utilisées pour le phénotypage. Les lignées ne montrent pas de différences phénotypiques entre elles.

a) Le génome de *F. graminearum* serait-il si peu plastique ?

Concernant le génotypage, le séquençage a révélé des variants uniquement dans les souches évoluées par les cycles végétatifs, 3 variants pour SV et 5 variants pour TSV. Parmi les 8 variations retrouvées, 6 sont des SNPs et 2 sont des insertions. Nous n'avons pas non plus identifié de possibles réarrangements chromosomiques lors de notre analyse de CNV.

Avoir retrouvé si peu de mutations est cependant surprenant en comparaison avec ce qui est décrit dans la littérature par rapport au reséquençage du génome de référence PH-1 (King et al., 2015) ou par rapport à sa capacité de mutation importante retrouvée lors d'une délétion d'un gène majeur (Chen et al., 2020). Ce faible nombre de mutations peut s'expliquer d'une part lors de l'expérimentation. En effet, lorsqu'on récupère des implants de mycélium du cycle  $n$  pour ensemercer ou pour générer des spores du cycle  $n+1$ , un certain nombre de cellules (non quantifiable) représente en réalité un faible pourcentage des cellules présentes sur la boîte<sup>34</sup>. Par conséquent, le nombre de cellules utilisées dans le but de générer le cycle suivant subit un goulot d'étranglement. Ce phénomène peut être associé à de la dérive génétique c'est-à-dire une réduction de la diversité allélique présente dans la boîte par rapport aux implants récupérés. Pour les cycles de reproduction asexuée, nous aurions pu récupérer les conidies sur la boîte de pétri de départ avec de l'eau stérile puis en inoculer un nombre connu pour le cycle suivant et ainsi de suite. Concernant les cycles végétatifs, le problème est plus insoluble car il faudrait récupérer toutes les cellules situées sur le front de migration pour ensemercer une nouvelle boîte de pétri pour limiter la dérive. Nous pourrions imaginer inoculer notre souche d'un côté d'une longue boîte de pétrie et récupérer, au cours du temps, différentes parties de la boîte contenant le mycélium (Baym et al., 2016). Ainsi, il n'y aura pas (ou très peu) de dérive génétique et nous observerions un taux de mutation (s'il y en a) plus proche de la réalité du champignon sous une pression de sélection particulière.

Enfin, au cours de cette expérience, nous avons utilisé une seule souche de *F. graminearum* correspondant à un unique fond génétique, ce qui nous a permis de mettre en évidence des

---

<sup>34</sup> En termes de surface cultivée, nos boîtes de pétrie font environ 63cm<sup>2</sup>. Les implants utilisés font 1cm<sup>2</sup>. Si on compte 4 implants par sporulation, on ne récupère que 6% de la surface mycélienne produite sur l'ensemble de la boîte. 1.5% pour 1 seul implant pour les cycles végétatifs.

mutations. En se remettant à une échelle populationnelle, rencontrée notamment au niveau du champ, de multiples souches, de *F. graminearum* co-existent. Afin d'étudier l'évolution des fréquences alléliques plutôt que l'apparition des mutations au cours du temps, nous pourrions choisir différentes souches de *F. graminearum* en fonction de critères tels que la capacité de production en mycotoxines, la croissance ou la virulence sur épi de blé. Le mélange des souches pourrait ainsi évoluer en fonction de la pression de sélection ainsi nous donnant accès à la diversité du paysage allélique au cours du temps (Barrick and Lenski, 2013). La mutation ne semblerait pas être un mécanisme préférentiel pour induire de la nouveauté chez *F. graminearum*, à l'inverse de ce qui est observé chez *F. oxysporum* (Ayhan, 2021). Chez cette espèce, des cycles de repiquage successifs sans pression de sélection particulière entraînent des modifications significatives des génomes des souches évoluées (SNP, Indels, insertions d'éléments transposables). Cela tient peut-être au fait que cette espèce disposerait d'un génome hautement plastique permettant de générer de la diversité pour compenser une absence de cycle sexué.

D'autre part, pour les cultures à 30°C lors de la conception de l'évolution expérimentale, nous avons observé une croissance plus faible au cycle 1 qui a été rattrapée au cycle 2 puis maintenue jusqu'au cycle 19. Nous pouvons noter aussi que ce rattrapage de croissance a été perdu après conservation des lignées évoluées au congélateur -80°C. Cette réponse pourrait correspondre à un phénomène d'acclimatation ou de priming. Par définition, c'est la mémoire d'un stress rencontré précédemment qui offre probablement un avantage important de survie dans un environnement qui varie rapidement. Nos résultats suggèrent cependant que cette mémoire ne semble pas inscrite dans l'ADN. C'est une réponse dont la compréhension reste encore imprécise qui peut intervenir d'une génération à l'autre (transgénérationnelle) médiée par des facteurs épigénétiques ou non génétiques (Harish and Osherov, 2022).

#### b) L'environnement utilisé ne serait pas assez « stressant » pour générer et sélectionner des mutations ?

Nous pouvons alors nous interroger sur ce qui définit un environnement stressant et/ ou en quoi une réponse phénotypique d'un organisme serait le reflet d'un stress ? Certains auteurs évoquent qu'une condition environnementale stressante peut être définie comme des conditions induisant une réduction importante du fitness dans une population. Face à un environnement stressant, plusieurs stratégies peuvent être employées par une population comme la migration

(l'échappement), l'extinction ou l'adaptation (Hoffmann and Hercus, 2000). Dans d'autres cas, un stress est la conséquence d'une fluctuation de l'environnement visible sur l'organisme car il y a une perturbation de l'homéostasie et des dommages moléculaires. Les organismes qui sont capables de s'adapter, par plasticité phénotypique ou génotypique pourront survivre dans l'environnement changeant (Brown et al., 2017).

Le type d'environnement induisant un stress est aussi un facteur à prendre en compte. En effet, certains environnements ne provoqueront pas de changement dans le phénotype ni dans le génotype alors que certains pourraient par exemple considérablement augmenter l'introduction de mutations. C'est le cas des antifongiques dont leur actions peuvent induire rapidement des résistances par mutations (Gutiérrez-Alonso et al., 2017; Zhou et al., 2022). Dans notre cas, l'évolution expérimentale aurait pu être conduite avec un antifongique ou, un agent de biocontrôle de la fusariose. En effet, au laboratoire, une étude d'un agent de biocontrôle potentiel issu de la défensine<sup>35</sup> de tique a révélé son efficacité contre la croissance et la production de TCTB de *F. graminearum* (Leannec-Rialland et al., 2021). Nous pourrions ainsi explorer les impacts moléculaires de l'application continue d'une telle molécule au cours de différents cycles et modes de reproduction.

---

<sup>35</sup> Peptide antimicrobien.

## Conclusion générale

Ces travaux de thèse se sont concentrés sur l'étude du potentiel adaptatif de *Fusarium graminearum*. La dissection de la plasticité phénotypique aura démontré la capacité de changement de ce champignon selon les environnements, ainsi qu'une diversité de changement entre souches. Cette capacité d'adaptation est médiée par des variations génétiques possiblement en lien avec la perception du signal venant de l'environnement. Notre étude du paysage adaptatif de *F. graminearum* se base aussi sur la plasticité génotypique via l'étude d'une force évolutive : la mutation. La mise en œuvre de cette force évolutive dans les mécanismes d'adaptation des populations de *F. graminearum* semblerait cependant minime aux regards des résultats obtenus de l'évolution expérimentale sous contraintes environnementales modérées.

Ensemble, la plasticité phénotypique et la plasticité génomique représentent deux aspects d'adaptation et d'évolution potentielle face au changement climatique du champignon phytopathogène *F. graminearum*.

## Bibliographie

- Agrawal, A.A., 2001. Phenotypic Plasticity in the Interactions and Evolution of Species. *Science* 294, 321–326. <https://doi.org/10.1126/science.1060701>
- Alexander, N.J., McCormick, S.P., Waalwijk, C., Van Der Lee, T., Proctor, R.H., 2011. The genetic basis for 3-ADON and 15-ADON trichothecene chemotypes in *Fusarium*. *Fungal Genet. Biol.* 48, 485–495. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2011.01.003>
- Alouane, T., Rimbart, H., Bormann, J., González-Montiel, G.A., Loesgen, S., Schäfer, W., Freitag, M., Langin, T., Bonhomme, L., 2021. Comparative Genomics of Eight *Fusarium graminearum* Strains with Contrasting Aggressiveness Reveals an Expanded Open Pangenome and Extended Effector Content Signatures. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 6257. <https://doi.org/10.3390/ijms22126257>
- Alster, C.J., Allison, S.D., Johnson, N.G., Glassman, S.I., Treseder, K.K., 2021. Phenotypic plasticity of fungal traits in response to moisture and temperature. *ISME Commun.* 1, 43. <https://doi.org/10.1038/s43705-021-00045-9>
- Alves, R.S., Teodoro, P.E., Farias, F.C., Farias, F.J.C., Carvalho, L.P., Rodrigues, J.I.S., Bhering, L.L., Resende, M.D.V., 2017. Research Article Evaluation of genotype x environment interactions in cotton using the method proposed by Eberhart and Russell and reaction norm models. *Genet. Mol. Res.* 16. <https://doi.org/10.4238/gmr16039726>
- Anderson, D.W., Black, R.M., Lee, C.G., Pottage, C., Rickard, R.L., Sandford, M.S., Webber, T.D., Williams, N.E., 1989. Structure-activity studies of trichothecenes: cytotoxicity of analogs and reaction products derived from T-2 toxin and neosolaniol. *J. Med. Chem.* 32, 555–562. <https://doi.org/10.1021/jm00123a008>
- Aoki, T., Ward, T.J., Kistler, H.C., O'Donnell, K., 2012. Systematics, Phylogeny and Trichothecene Mycotoxin Potential of *Fusarium* Head Blight Cereal Pathogens. *Mycotoxins* 62, 91–102. <https://doi.org/10.2520/myco.62.91>
- Atanasova-Penichon, V., Legoahec, L., Bernillon, S., Deborde, C., Maucourt, M., Verdal-Bonnin, M.-N., Pinson-Gadais, L., Ponts, N., Moing, A., Richard-Forget, F., 2018. Mycotoxin Biosynthesis and Central Metabolism Are Two Interlinked Pathways in *Fusarium graminearum*, as Demonstrated by the Extensive Metabolic Changes Induced by Caffeic Acid Exposure. *Appl. Environ. Microbiol.* 84, e01705-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.01705-17>
- Atwell, S., Huang, Y.S., Vilhjálmsson, B.J., Willems, G., Horton, M., Li, Y., Meng, D., Platt, A., Tarone, A.M., Hu, T.T., Jiang, R., Mulyati, N.W., Zhang, X., Amer, M.A., Baxter, I., Brachi, B., Chory, J., Dean, C., Debieu, M., De Meaux, J., Ecker, J.R., Faure, N., Kniskern, J.M., Jones, J.D.G., Michael, T., Nemri, A., Roux, F., Salt, D.E., Tang, C., Todesco, M., Traw, M.B., Weigel, D., Marjoram, P., Borevitz, J.O., Bergelson, J., Nordborg, M., 2010. Genome-wide association study of 107 phenotypes in *Arabidopsis thaliana* inbred lines. *Nature* 465, 627–631. <https://doi.org/10.1038/nature08800>
- Audenaert, K., Vanheule, A., Höfte, M., Haesaert, G., 2013. Deoxynivalenol: A Major Player in the Multifaceted Response of *Fusarium* to Its Environment. *Toxins* 6, 1–19. <https://doi.org/10.3390/toxins6010001>
- Auld, J.R., Agrawal, A.A., Relyea, R.A., 2010. Re-evaluating the costs and limits of adaptive phenotypic plasticity. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 277, 503–511. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1355>
- Ayhan, D.H., 2021. Discovering mechanisms driving adaptive evolution in the cross-kingdom fungal pathogen *Fusarium oxysporum*. University of Massachusetts Amherst. <https://doi.org/10.7275/24509379>
- Barrick, J.E., Lenski, R.E., 2013. Genome dynamics during experimental evolution. *Nat. Rev. Genet.* 14, 827–839. <https://doi.org/10.1038/nrg3564>



- Baym, M., Lieberman, T.D., Kelsic, E.D., Chait, R., Gross, R., Yelin, I., Kishony, R., 2016. Spatiotemporal microbial evolution on antibiotic landscapes. *Science* 353, 1147–1151. <https://doi.org/10.1126/science.aag0822>
- Bayram, Ö., Krappmann, S., Ni, M., Bok, J.W., Helmstaedt, K., Valerius, O., Braus-Stromeier, S., Kwon, N.-J., Keller, N.P., Yu, J.-H., Braus, G.H., 2008. VelB/VeA/LaeA Complex Coordinates Light Signal with Fungal Development and Secondary Metabolism. *Science* 320, 1504–1506. <https://doi.org/10.1126/science.1155888>
- Belizán, M.M.E., Gomez, A. de los A., Terán Baptista, Z.P., Jimenez, C.M., Sánchez Matías, M. del H., Catalán, C.A.N., Sampietro, D.A., 2019. Influence of water activity and temperature on growth and production of trichothecenes by *Fusarium graminearum sensu stricto* and related species in maize grains. *Int. J. Food Microbiol.* 305, 108242. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108242>
- Bell, A.M., Hellmann, J.K., 2019. An Integrative Framework for Understanding the Mechanisms and Multigenerational Consequences of Transgenerational Plasticity. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 50, 97–118. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110218-024613>
- Beyhan, S., Gutierrez, M., Voorhies, M., Sil, A., 2013. A Temperature-Responsive Network Links Cell Shape and Virulence Traits in a Primary Fungal Pathogen. *PLoS Biol.* 11, e1001614. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001614>
- Bian, Z., Ni, Y., Xu, J.-R., Liu, H., 2019. A-to-I mRNA editing in fungi: occurrence, function, and evolution. *Cell. Mol. Life Sci.* 76, 329–340. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2936-3>
- Bluhm, B.H., Zhao, X., Flaherty, J.E., Xu, J.-R., Dunkle, L.D., 2007. RAS2 Regulates Growth and Pathogenesis in *Fusarium graminearum*. *Mol. Plant-Microbe Interactions* 20, 627–636. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-6-0627>
- Boisson, C., 1991. Variabilité de la morphologie et du pouvoir pathogène des champignons appartenant au genre *Fusarium* : mise au point bibliographique n°2.
- Bojsen, R., Regenber, B., Gresham, D., Folkesson, A., 2016. A common mechanism involving the TORC1 pathway can lead to amphotericin B-persistence in biofilm and planktonic *Saccharomyces cerevisiae* populations. *Sci. Rep.* 6, 21874. <https://doi.org/10.1038/srep21874>
- Bossdorf, O., Arcuri, D., Richards, C.L., Pigliucci, M., 2010. Experimental alteration of DNA methylation affects the phenotypic plasticity of ecologically relevant traits in *Arabidopsis thaliana*. *Evol. Ecol.* 24, 541–553. <https://doi.org/10.1007/s10682-010-9372-7>
- Bottalico, A., Perrone, G., 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe, in: Logrieco, A., Bailey, J.A., Corazza, L., Cooke, B.M. (Eds.), *Mycotoxins in Plant Disease*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 611–624. [https://doi.org/10.1007/978-94-010-0001-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-010-0001-7_2)
- Bradbury, P.J., Zhang, Z., Kroon, D.E., Casstevens, T.M., Ramdoss, Y., Buckler, E.S., 2007. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23, 2633–2635. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>
- Bradshaw, A.D., 2006. Unravelling phenotypic plasticity – why should we bother? *New Phytol.* 170, 644–648. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01761.x>
- Brakhage, A.A., 2013. Regulation of fungal secondary metabolism. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 21–32. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2916>
- Brauer, E.K., Manes, N., Bonner, C., Subramaniam, R., 2020. Two 14-3-3 proteins contribute to nitrogen sensing through the TOR and glutamine synthetase-dependent pathways in *Fusarium graminearum*. *Fungal Genet. Biol.* 134, 103277. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2019.103277>

- Brown, A.J.P., Cowen, L.E., Di Pietro, A., Quinn, J., 2017. Stress Adaptation, in: Heitman, J., Howlett, B.J., Crous, P.W., Stukenbrock, E.H., James, T.Y., Gow, N.A.R. (Eds.), *The Fungal Kingdom*. ASM Press, Washington, DC, USA, pp. 463–485. <https://doi.org/10.1128/9781555819583.ch21>
- Broydé, H., Doré, T., 2013. Effects of cropping systems on food and feed contamination by *Fusarium* and *Aspergillus* mycotoxins. *Cah. Agric.* 22, 182–194. <https://doi.org/10.1684/agr.2012.0571>
- Buerstmayr, H., Ban, T., Anderson, J.A., 2009. QTL mapping and marker-assisted selection for *Fusarium* head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breed.* 128, 1–26. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2008.01550.x>
- Bui, D.-C., Lee, Y., Lim, J.Y., Fu, M., Kim, J.-C., Choi, G.J., Son, H., Lee, Y.-W., 2016. Heat shock protein 90 is required for sexual and asexual development, virulence, and heat shock response in *Fusarium graminearum*. *Sci. Rep.* 6, 28154. <https://doi.org/10.1038/srep28154>
- Campbell, M.A., Staats, M., Van Kan, J.A.L., Rokas, A., Slot, J.C., 2013. Repeated loss of an anciently horizontally transferred gene cluster in *Botrytis*. *Mycologia* 105, 1126–1134. <https://doi.org/10.3852/12-390>
- Cantu, D., Segovia, V., MacLean, D., Bayles, R., Chen, X., Kamoun, S., Dubcovsky, J., Saunders, D.G., Uauy, C., 2013. Genome analyses of the wheat yellow (stripe) rust pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* reveal polymorphic and haustorial expressed secreted proteins as candidate effectors. *BMC Genomics* 14, 270. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-270>
- Castiblanco, V., Castillo, H.E., Miedaner, T., 2020. Be flexible and adapt easily—The great role of plasticity relative to genetic variation for aggressiveness of *Fusarium culmorum* isolates. *J. Phytopathol.* 168, 162–174. <https://doi.org/10.1111/jph.12878>
- Castiblanco, V., Marulanda, J.J., Würschum, T., Miedaner, T., 2017. Candidate gene based association mapping in *Fusarium culmorum* for field quantitative pathogenicity and mycotoxin production in wheat. *BMC Genet.* 18, 49. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0511-9>
- Champeil, A., Doré, T., Fourbet, J.F., 2004. *Fusarium* head blight: epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains. *Plant Sci.* 166, 1389–1415. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.02.004>
- Charmantier, A., McCleery, R.H., Cole, L.R., Perrins, C., Kruuk, L.E.B., Sheldon, B.C., 2008. Adaptive Phenotypic Plasticity in Response to Climate Change in a Wild Bird Population. *Science* 320, 800–803. <https://doi.org/10.1126/science.1157174>
- Chen, J., Sharifi, R., Khan, M.S.S., Islam, F., Bhat, J.A., Kui, L., Majeed, A., 2022. Wheat Microbiome: Structure, Dynamics, and Role in Improving Performance Under Stress Environments. *Front. Microbiol.* 12, 821546. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.821546>
- Chen, S., Waghmode, T.R., Sun, R., Kuramae, E.E., Hu, C., Liu, B., 2019. Root-associated microbiomes of wheat under the combined effect of plant development and nitrogen fertilization. *Microbiome* 7, 136. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0750-2>
- Chen, X., Steed, A., Travella, S., Keller, B., Nicholson, P., 2009. *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, Y., Kistler, H.C., Ma, Z., 2019. *Fusarium graminearum* Trichothecene Mycotoxins: Biosynthesis, Regulation, and Management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 57, 15–39. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100318>

- Chen, Z., Zehraoui, E., Atanasoff-Kardjalieff, A.K., Strauss, J., Studt, L., Ponts, N., 2020. Effect of H2A.Z deletion is rescued by compensatory mutations in *Fusarium graminearum*. *PLOS Genet.* 16, e1009125. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009125>
- Chevin, L.-M., Hoffmann, A.A., 2017. Evolution of phenotypic plasticity in extreme environments. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 372, 20160138. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0138>
- Chow, E.W.L., Pang, L.M., Wang, Y., 2021. From Jekyll to Hyde: The Yeast–Hyphal Transition of *Candida albicans*. *Pathogens* 10, 859. <https://doi.org/10.3390/pathogens10070859>
- Cook, C.D.K., 1969. On the determination of leaf form in *Ranunculus aquatilis*. *New Phytol.* 68, 469–480. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1969.tb06457.x>
- Cope, R.B., 2018. Trichothecenes, in: *Veterinary Toxicology*. Elsevier, pp. 1043–1053. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00075-1>
- Corwin, J.A., Subedy, A., Eshbaugh, R., Kliebenstein, D.J., 2016. Expansive Phenotypic Landscape of *Botrytis cinerea* Shows Differential Contribution of Genetic Diversity and Plasticity. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 29, 287–298. <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-15-0196-R>
- Couso, L.L., Fernández, R.J., 2012. Phenotypic plasticity as an index of drought tolerance in three Patagonian steppe grasses. *Ann. Bot.* 110, 849–857. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs147>
- Cowger, C., Patton-Özkurt, J., Brown-Guedira, G., Perugini, L., 2009. Post-Anthesis Moisture Increased Fusarium Head Blight and Deoxynivalenol Levels in North Carolina Winter Wheat. *Am. Phytopathol. Soc.* 99, 320–327. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-4-0320>
- Cuomo, C.A., Güldener, U., Xu, J.-R., Trail, F., Turgeon, B.G., Di Pietro, A., Walton, J.D., Ma, L.-J., Baker, S.E., Rep, M., Adam, G., Antoniw, J., Baldwin, T., Calvo, S., Chang, Y.-L., DeCaprio, D., Gale, L.R., Gnerre, S., Goswami, R.S., Hammond-Kosack, K., Harris, L.J., Hilburn, K., Kennell, J.C., Kroken, S., Magnuson, J.K., Mannhaupt, G., Mauceli, E., Mewes, H.-W., Mitterbauer, R., Muehlbauer, G., Münsterkötter, M., Nelson, D., O'Donnell, K., Ouellet, T., Qi, W., Quesneville, H., Roncero, M.I.G., Seong, K.-Y., Tetko, I.V., Urban, M., Waalwijk, C., Ward, T.J., Yao, J., Birren, B.W., Kistler, H.C., 2007. The *Fusarium graminearum* Genome Reveals a Link Between Localized Polymorphism and Pathogen Specialization. *Science* 317, 1400–1402. <https://doi.org/10.1126/science.1143708>
- d'Enfert, C., 2009. Hidden killers: persistence of opportunistic fungal pathogens in the human host. *Curr. Opin. Microbiol.* 12, 358–364. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2009.05.008>
- Darwin, C., 1913. *Journal of Researches into the Natural History and Geology of the Countries Visited During the Voyage Round the World of H.M.S. Beagle Under the Command of Captain Fitz Roy, R.N*, 2nd ed.
- De Brucker, K., De Cremer, K., Cammue, B.P.A., Thevissen, K., 2016. Protocol for Determination of the Persister Subpopulation in *Candida Albicans* Biofilms, in: Michiels, J., Fauvart, M. (Eds.), *Bacterial Persistence, Methods in Molecular Biology*. Springer New York, New York, NY, pp. 67–72. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2854-5\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2854-5_6)
- De Lisle, S.P., Rowe, L., 2023. Condition dependence and the paradox of missing plasticity costs. *Evol. Lett.* 7, 67–78. <https://doi.org/10.1093/evlett/grad009>
- Dean, R., Van Kan, J.A.L., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D., Rudd, J.J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., Foster, G.D., 2012. The Top 10 fungal

- pathogens in molecular plant pathology: Top 10 fungal pathogens. *Mol. Plant Pathol.* 13, 414–430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Delarze, E., Sanglard, D., 2015. Defining the frontiers between antifungal resistance, tolerance and the concept of persistence. *Drug Resist. Updat.* 23, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.drup.2015.10.001>
- Delph, L.F., Kelly, J.K., 2014. On the importance of balancing selection in plants. *New Phytol.* 201, 45–56. <https://doi.org/10.1111/nph.12441>
- Delpuech, J.-M., Moreteau, B., Chiche, J., Pla, E., Voudibio, J., David, J.R., 1995. Phenotypic plasticity and reaction norms in temperate and tropical populations of *Drosophila melanogaster* ovarian size and developmental temperature. *Evolution* 49, 670–675. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1995.tb02303.x>
- Des Marais, D.L., Hernandez, K.M., Juenger, T.E., 2013. Genotype-by-Environment Interaction and Plasticity: Exploring Genomic Responses of Plants to the Abiotic Environment. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 44, 5–29. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110512-135806>
- Desjardins, A.E., Proctor, R.H., 2007. Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *Int. J. Food Microbiol.* 119, 47–50. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.024>
- DeWitt, T.J., Scheiner, S.M., 2005. Phenotypic plasticity: Functional and conceptual approaches. *Phenotypic variation from Single Genotypes. Am. J. Hum. Biol.* 17, 124–125. <https://doi.org/10.1002/ajhb.20088>
- DeWitt, T.J., Sih, A., Wilson, D.S., 1998. Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends Ecol. Evol.* 13, 77–81. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(97\)01274-3](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(97)01274-3)
- DiGiacopo, D.G., Hua, J., 2020. Evaluating the fitness consequences of plasticity in tolerance to pesticides. *Ecol. Evol.* 10, 4448–4456. <https://doi.org/10.1002/ece3.6211>
- Dill-Macky, R., Jones, R.K., 2000. The Effect of Previous Crop Residues and Tillage on *Fusarium* Head Blight of Wheat. *Plant Dis.* 84, 71–76. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.1.71>
- Ding, J., Zhang, Y., Wang, Jiaying, Liu, C., Gao, X., Wu, Y., Wang, Jinqian, Wu, X., Zhu, J., Shen, W., 2022. Genome-wide association study identified candidate SNPs and genes associated with hypoxia tolerance in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Aquaculture* 560, 738472. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738472>
- Donelson, J.M., Salinas, S., Munday, P.L., Shama, L.N.S., 2018. Transgenerational plasticity and climate change experiments: Where do we go from here? *Glob. Change Biol.* 24, 13–34. <https://doi.org/10.1111/gcb.13903>
- Droce, A., Sørensen, J.L., Sondergaard, T.E., Rasmussen, J.J., Lysøe, E., Giese, H., 2017. PTR2 peptide transporters in *Fusarium graminearum* influence secondary metabolite production and sexual development. *Fungal Biol.* 121, 515–527. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.02.003>
- Dunkel, N., Blaß, J., Rogers, P.D., Morschhäuser, J., 2008. Mutations in the multi-drug resistance regulator *MRR1*, followed by loss of heterozygosity, are the main cause of *MDR1* overexpression in fluconazole-resistant *Candida albicans* strains. *Mol. Microbiol.* 69, 827–840. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06309.x>
- Dweba, C.C., Figlan, S., Shimelis, H.A., Motaung, T.E., Sydenham, S., Mwadzingeni, L., Tsilo, T.J., 2017. *Fusarium* head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies. *Crop Prot.* 91, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.10.002>
- El-Soda, M., Malosetti, M., Zwaan, B.J., Koornneef, M., Aarts, M.G.M., 2014. Genotype × environment interaction QTL mapping in plants: lessons from Arabidopsis. *Trends Plant Sci.* 19, 390–398. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.01.001>
- Falconer, D.S., 1989. Introduction to quantitative genetics, 3rd ed. ed. Longman scientific & technical J. Wiley & son, Essex New York.

- Fu, C., Sun, S., Billmyre, R.B., Roach, K.C., Heitman, J., 2015. Unisexual versus bisexual mating in *Cryptococcus neoformans*: Consequences and biological impacts. *Fungal Genet. Biol.* 78, 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.08.008>
- Gale, L.R., Bryant, J.D., Calvo, S., Giese, H., Katan, T., O'Donnell, K., Suga, H., Taga, M., Usgaard, T.R., Ward, T.J., Kistler, H.C., 2005. Chromosome Complement of the Fungal Plant Pathogen *Fusarium graminearum* Based on Genetic and Physical Mapping and Cytological Observations. *Genetics* 171, 985–1001. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.044842>
- Gallo, M., Giovati, L., Magliani, W., Pertinhez, T.A., Conti, S., Ferrari, E., Spisni, A., Ciociola, T., 2022. Metabolic Plasticity of *Candida albicans* in Response to Different Environmental Conditions. *J. Fungi* 8, 723. <https://doi.org/10.3390/jof8070723>
- Garbelotto, M., Rocca, G.D., Osmundson, T., Di Lonardo, V., Danti, R., 2015. An increase in transmission-related traits and in phenotypic plasticity is documented during a fungal invasion. *Ecosphere* 6, art180. <https://doi.org/10.1890/ES14-00426.1>
- Gardiner, D.M., Kazan, K., Manners, J.M., 2009a. Nutrient profiling reveals potent inducers of trichothecene biosynthesis in *Fusarium graminearum*. *Fungal Genet. Biol.* 46, 604–613. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2009.04.004>
- Gardiner, D.M., Osborne, S., Kazan, K., Manners, J.M., 2009b. Low pH regulates the production of deoxynivalenol by *Fusarium graminearum*. *Microbiology* 155, 3149–3156. <https://doi.org/10.1099/mic.0.029546-0>
- Gavrilets, S., Scheiner, S.M., 1993. The genetics of phenotypic plasticity. V. Evolution of reaction norm shape. *J. Evol. Biol.* 6, 31–48. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1993.6010031.x>
- Ghalambor, C.K., Angeloni, L.M., Carroll, S.P., 2010. Behavior as Phenotypic Plasticity. *Evol. Behav. Ecol.* 90–107.
- Ghalambor, C.K., McKAY, J.K., Carroll, S.P., Reznick, D.N., 2007. Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Funct. Ecol.* 21, 394–407. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01283.x>
- Gibert, P., Debat, V., Ghalambor, C.K., 2019. Phenotypic plasticity, global change, and the speed of adaptive evolution. *Curr. Opin. Insect Sci.* 35, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2019.06.007>
- Gibert, P., Moreteau, B., David, J.R., Scheiner, S.M., 1998. Describing the evolution of reaction norm shape: body pigmentation in drosophila. *Evolution* 52, 1501–1506. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1998.tb02032.x>
- Gibert, P., Moreteau, B., Moreteau, J.-C., David, J.R., 1996. Growth temperature and adult pigmentation in two drosophila sibling species: an adaptive convergence of reaction norms in sympatric populations? *Evolution* 50, 2346–2353. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1996.tb03622.x>
- Goh, C.-H., Veliz Vallejos, D.F., Nicotra, A.B., Mathesius, U., 2013. The Impact of Beneficial Plant-Associated Microbes on Plant Phenotypic Plasticity. *J. Chem. Ecol.* 39, 826–839. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0326-8>
- Gomulkiewicz, R., Stinchcombe, J.R., 2022. Phenotypic plasticity made simple, but not too simple. *Am. J. Bot.* 109, 1519–1524. <https://doi.org/10.1002/ajb2.16068>
- Griffith, T.M., Sultan, S.E., 2005. Shade tolerance plasticity in response to neutral vs green shade cues in *Polygonum* species of contrasting ecological breadth. *New Phytol.* 166, 141–148. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01277.x>
- Gu, Q., Zhang, C., Yu, F., Yin, Y., Shim, W.-B., Ma, Z., 2015. Protein kinase FgSch9 serves as a mediator of the target of rapamycin and high osmolarity glycerol pathways and regulates multiple stress responses and secondary metabolism in *Fusarium*

- graminearum*: Functions of FgSch9. *Environ. Microbiol.* 17, 2661–2676. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12522>
- Guenther, J.C., Hallen-Adams, H.E., Bücking, H., Shachar-Hill, Y., Trail, F., 2009. Triacylglyceride Metabolism by *Fusarium graminearum* During Colonization and Sexual Development on Wheat. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 22, 1492–1503. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-12-1492>
- Gulisija, D., Kim, Y., Plotkin, J.B., 2016. Phenotypic Plasticity Promotes Balanced Polymorphism in Periodic Environments by a Genomic Storage Effect. *Genetics* 202, 1437–1448. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.185702>
- Guo, L., Zhao, G., Xu, J., Kistler, H.C., Gao, L., Ma, L., 2016. Compartmentalized gene regulatory network of the pathogenic fungus *Fusarium graminearum*. *New Phytol.* 211, 527–541. <https://doi.org/10.1111/nph.13912>
- Gutiérrez-Alonso, O., Hawkins, N.J., Cools, H.J., Shaw, M.W., Fraaije, B.A., 2017. Dose-dependent selection drives lineage replacement during the experimental evolution of SDHI fungicide resistance in *Zymoseptoria tritici*. *Evol. Appl.* 10, 1055–1066. <https://doi.org/10.1111/eva.12511>
- Hao, Z., Li, Y., Jiang, Y., Xu, J., Li, J., Luo, L., 2021. Genome Sequence Analysis of the Fungal Pathogen *Fusarium graminearum* Using Oxford Nanopore Technology. *J. Fungi* 7, 699. <https://doi.org/10.3390/jof7090699>
- Harish, E., Osherov, N., 2022. Fungal Priming: Prepare or Perish. *J. Fungi* 8, 448. <https://doi.org/10.3390/jof8050448>
- Hay, W.T., McCormick, S.P., Vaughan, M.M., 2021. Effects of Atmospheric CO<sub>2</sub> and Temperature on Wheat and Corn Susceptibility to *Fusarium graminearum* and Deoxynivalenol Contamination. *Plants* 10, 2582. <https://doi.org/10.3390/plants10122582>
- Herman, J.J., Sultan, S.E., 2011. Adaptive Transgenerational Plasticity in Plants: Case Studies, Mechanisms, and Implications for Natural Populations. *Front. Plant Sci.* 2. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00102>
- Hewitt, S.K., Foster, D.S., Dyer, P.S., Avery, S.V., 2016. Phenotypic heterogeneity in fungi: Importance and methodology. *Fungal Biol. Rev.* 30, 176–184. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.09.002>
- Hindorff, L.A., Sethupathy, P., Junkins, H.A., Ramos, E.M., Mehta, J.P., Collins, F.S., Manolio, T.A., 2009. Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 9362–9367. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903103106>
- Hoffmann, A.A., Hercus, M.J., 2000. Environmental Stress as an Evolutionary Force. *BioScience* 50, 217. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2000\)050\[0217:ESAAEF\]2.3.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2000)050[0217:ESAAEF]2.3.CO;2)
- Hooft, J.M., Bureau, D.P., 2021. Deoxynivalenol: Mechanisms of action and its effects on various terrestrial and aquatic species. *Food Chem. Toxicol.* 157, 112616. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112616>
- Hou, R., Jiang, C., Zheng, Q., Wang, C., Xu, J., 2015. The AreA transcription factor mediates the regulation of deoxynivalenol (DON) synthesis by ammonium and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) signalling in *Fusarium graminearum*. *Mol. Plant Pathol.* 16, 987–999. <https://doi.org/10.1111/mpp.12254>
- Hu, S., Zhou, X., Gu, X., Cao, S., Wang, C., Xu, J.-R., 2014. The cAMP-PKA Pathway Regulates Growth, Sexual and Asexual Differentiation, and Pathogenesis in *Fusarium graminearum*. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 27, 557–566. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-13-0306-R>

- Huang, M., Liu, X., Zhou, Y., Summers, R.M., Zhang, Z., 2019. BLINK: a package for the next level of genome-wide association studies with both individuals and markers in the millions. *GigaScience* 8. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giy154>
- Jallet, A.J., Le Rouzic, A., Genissel, A., 2020. Evolution and Plasticity of the Transcriptome Under Temperature Fluctuations in the Fungal Plant Pathogen *Zymoseptoria tritici*. *Front. Microbiol.* 11, 573829. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.573829>
- Jiang, J., Liu, X., Yin, Y., Ma, Z., 2011. Involvement of a Velvet Protein FgVeA in the Regulation of Asexual Development, Lipid and Secondary Metabolisms and Virulence in *Fusarium graminearum*. *PLoS ONE* 6, e28291. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028291>
- Jiménez, M., Máñez, M., Hernández, E., 1996. Influence of water activity and temperature on the production of zearalenone in corn by three *Fusarium* species. *Int. J. Food Microbiol.* 29, 417–421. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(95\)00073-9](https://doi.org/10.1016/0168-1605(95)00073-9)
- Jochum, C.C., Osborne, L.E., Yuen, G.Y., 2006. *Fusarium* head blight biological control with *Lysobacter enzymogenes* strain C3. *Biol. Control* 39, 336–344. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.05.004>
- Johns, L.E., Bebbler, D.P., Gurr, S.J., Brown, N.A., 2022. Emerging health threat and cost of *Fusarium* mycotoxins in European wheat. *Nat. Food* 3, 1014–1019. <https://doi.org/10.1038/s43016-022-00655-z>
- Julian Maywald, N., Francioli, D., Mang, M., Ludewig, U., 2023. Role of Mineral Nitrogen Nutrition in Fungal Plant Diseases of Cereal Crops. *Crit. Rev. Plant Sci.* 42, 93–123. <https://doi.org/10.1080/07352689.2023.2196100>
- Kadam, N.N., Tamilselvan, A., Lawas, L.M.F., Quinones, C., Bahuguna, R.N., Thomson, M.J., Dingkuhn, M., Muthurajan, R., Struik, P.C., Yin, X., Jagadish, S.V.K., 2017. Genetic Control of Plasticity in Root Morphology and Anatomy of Rice in Response to Water Deficit. *Plant Physiol.* 174, 2302–2315. <https://doi.org/10.1104/pp.17.00500>
- Karlsson, I., Persson, P., Friberg, H., 2021. *Fusarium* Head Blight from a Microbiome perspective. *Front. Microbiol.* 12, 628373. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628373>
- Kelkar, Y.D., Ochman, H., 2012. Causes and Consequences of Genome Expansion in Fungi. *Genome Biol. Evol.* 4, 13–23. <https://doi.org/10.1093/gbe/evr124>
- Keller, N.P., 2019. Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery. *Nat. Rev. Microbiol.* 17, 167–180. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0121-1>
- Keren, I., Shah, D., Spoering, A., Kaldalu, N., Lewis, K., 2004. Specialized Persister Cells and the Mechanism of Multidrug Tolerance in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 186, 8172–8180. <https://doi.org/10.1128/JB.186.24.8172-8180.2004>
- Khan, M.R., Doohan, F.M., 2009. Bacterium-mediated control of *Fusarium* head blight disease of wheat and barley and associated mycotoxin contamination of grain. *Biol. Control* 48, 42–47. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.08.015>
- Kim, H., Son, H., Lee, Y.-W., 2014. Effects of light on secondary metabolism and fungal development of *Fusarium graminearum*. *J. Appl. Microbiol.* 116, 380–389. <https://doi.org/10.1111/jam.12381>
- Kimura, M., 1991. The neutral theory of molecular evolution: A review of recent evidence. *Jpn. J. Genet.* 66, 367–386. <https://doi.org/10.1266/jjg.66.367>
- Kimura, M., 1989. The neutral theory of molecular evolution and the world view of the neutralists. *Genome* 31, 24–31. <https://doi.org/10.1139/g89-009>
- Kimura, M., 1968. Evolutionary Rate at the Molecular Level. *Nature* 217, 624–626. <https://doi.org/10.1038/217624a0>
- Kimura, M., 1986. DNA and the Neutral Theory. *Philosophical transactions of the Royal Society*, 312, 343-354, doi : 10.1098/rstb.1986.0012

- King, R., Urban, M., Hammond-Kosack, K.E., 2017. Annotation of *Fusarium graminearum* (PH-1) Version 5.0. Genome Announc. 5, e01479-16. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01479-16>
- King, R., Urban, M., Hammond-Kosack, M.C.U., Hassani-Pak, K., Hammond-Kosack, K.E., 2015. The completed genome sequence of the pathogenic ascomycete fungus *Fusarium graminearum*. BMC Genomics 16, 544. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1756-1>
- Kingma, E., Diepeveen, E.T., Iñigo de la Cruz, L., Laan, L., 2020. Pleiotropy allows recovery of phenotypic plasticity in constant environments. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.06.02.123208>
- Kita, R., Venkataram, S., Zhou, Y., Fraser, H.B., 2017. High-resolution mapping of *cis* - regulatory variation in budding yeast. Proc. Natl. Acad. Sci. 114. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717421114>
- Kreutzer, D.A., Essigmann, J.M., 1998. Oxidized, deaminated cytosines are a source of C → T transitions *in vivo*. Proc. Natl. Acad. Sci. 95, 3578–3582. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.7.3578>
- Kronholm, I., Johannesson, H., Ketola, T., 2016. Epigenetic Control of Phenotypic Plasticity in the Filamentous Fungus *Neurospora crassa*. G3 GenesGenomesGenetics 6, 4009–4022. <https://doi.org/10.1534/g3.116.033860>
- Kumar, D., Sharma, Shiveta, Sharma, R., Pundir, S., Singh, V.K., Chaturvedi, D., Singh, B., Kumar, S., Sharma, Shailendra, 2021. Genome-wide association study in hexaploid wheat identifies novel genomic regions associated with resistance to root lesion nematode (*Pratylenchus thornei*). Sci. Rep. 11, 3572. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-80996-0>
- Kusmec, A., Srinivasan, S., Nettleton, D., Schnable, P.S., 2017. Distinct genetic architectures for phenotype means and plasticities in *Zea mays*. Nat. Plants 3, 715–723. <https://doi.org/10.1038/s41477-017-0007-7>
- LaFleur, M.D., Kumamoto, C.A., Lewis, K., 2006. *Candida albicans* Biofilms Produce Antifungal-Tolerant Persister Cells. Antimicrob. Agents Chemother. 50, 3839–3846. <https://doi.org/10.1128/AAC.00684-06>
- LaFleur, M.D., Qi, Q., Lewis, K., 2010. Patients with Long-Term Oral Carriage Harbor High-Persister Mutants of *Candida albicans*. Antimicrob. Agents Chemother. 54, 39–44. <https://doi.org/10.1128/AAC.00860-09>
- Laitinen, R.A.E., Nikoloski, Z., 2019. Genetic basis of plasticity in plants. J. Exp. Bot. 70, 739–745. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery404>
- Lande, R., 2009. Adaptation to an extraordinary environment by evolution of phenotypic plasticity and genetic assimilation. J. Evol. Biol. 22, 1435–1446. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2009.01754.x>
- Laurent, B., Moinard, M., Spataro, C., Ponts, N., Barreau, C., Foulongne-Oriol, M., 2017. Landscape of genomic diversity and host adaptation in *Fusarium graminearum*. BMC Genomics 18, 203. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3524-x>
- Laurent, B., Palaiokostas, C., Spataro, C., Moinard, M., Zehraoui, E., Houston, R.D., Foulongne-Oriol, M., 2018. High-resolution mapping of the recombination landscape of the phytopathogen *Fusarium graminearum* suggests two-speed genome evolution. Mol. Plant Pathol. 19, 341–354. <https://doi.org/10.1111/mpp.12524>
- Leannec-Rialland, V., Cabezas-Cruz, A., Atanasova, V., Chereau, S., Ponts, N., Tonk, M., Vilcinskis, A., Ferrer, N., Valdés, J.J., Richard-Forget, F., 2021. Tick defensin  $\gamma$ -core reduces *Fusarium graminearum* growth and abrogates mycotoxins production with high efficiency. Sci. Rep. 11, 7962. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86904-w>



- Lendenmann, M.H., Croll, D., Stewart, E.L., McDonald, B.A., 2014. Quantitative Trait Locus Mapping of Melanization in the Plant Pathogenic Fungus *Zymoseptoria tritici*. *G3 GenesGenomesGenetics* 4, 2519–2533. <https://doi.org/10.1534/g3.114.015289>
- Leslie, J.F., Summerell, B.A. (Eds.), 2006. The Fusarium Laboratory Manual, in: The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, pp. i–xii. <https://doi.org/10.1002/9780470278376.fmatter>
- Levy, S.F., Siegal, M.L., 2008. Network Hubs Buffer Environmental Variation in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS Biol.* 6, e264. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060264>
- Li, G., Hu, S., Hou, H., Kimura, S., 2019. Heterophylly: Phenotypic Plasticity of Leaf Shape in Aquatic and Amphibious Plants. *Plants* 8, 420. <https://doi.org/10.3390/plants8100420>
- Li, H., Li, X., Zhou, X., 2020. Trait means predict performance under water limitation better than plasticity for seedlings of Poaceae species on the eastern Tibetan Plateau. *Ecol. Evol.* 10, 2944–2955. <https://doi.org/10.1002/ece3.6108>
- Link, J., 1809. Observationes in ordines plantarum naturales. *Ges. Naturforschender Freunde Zu Berl., Magazin* 3, 3–42.
- Liu, H., Wang, Q., He, Y., Chen, L., Hao, C., Jiang, C., Li, Y., Dai, Y., Kang, Z., Xu, J.-R., 2016. Genome-wide A-to-I RNA editing in fungi independent of ADAR enzymes. *Genome Res.* 26, 499–509. <https://doi.org/10.1101/gr.199877.115>
- Liu, X., Huang, M., Fan, B., Buckler, E.S., Zhang, Z., 2016. Iterative Usage of Fixed and Random Effect Models for Powerful and Efficient Genome-Wide Association Studies. *PLOS Genet.* 12, e1005767. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005767>
- Lowe, R.G.T., Allwood, J.W., Galster, A.M., Urban, M., Daudi, A., Canning, G., Ward, J.L., Beale, M.H., Hammond-Kosack, K.E., 2010. A Combined <sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance and Electrospray Ionization–Mass Spectrometry Analysis to Understand the Basal Metabolism of Plant-Pathogenic *Fusarium* spp. *Mol. Plant-Microbe Interactions* 23, 1605–1618. <https://doi.org/10.1094/MPMI-04-10-0092>
- Ma, L.-J., Geiser, D.M., Proctor, R.H., Rooney, A.P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D.M., Manners, J.M., Kazan, K., 2013. *Fusarium* Pathogenomics. *Annu. Rev. Microbiol.* 67, 399–416. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155650>
- Ma, L.-J., Van Der Does, H.C., Borkovich, K.A., Coleman, J.J., Daboussi, M.-J., Di Pietro, A., Dufresne, M., Freitag, M., Grabherr, M., Henrissat, B., Houterman, P.M., Kang, S., Shim, W.-B., Woloshuk, C., Xie, X., Xu, J.-R., Antoniw, J., Baker, S.E., Bluhm, B.H., Breakspear, A., Brown, D.W., Butchko, R.A.E., Chapman, S., Coulson, R., Coutinho, P.M., Danchin, E.G.J., Diener, A., Gale, L.R., Gardiner, D.M., Goff, S., Hammond-Kosack, K.E., Hilburn, K., Hua-Van, A., Jonkers, W., Kazan, K., Kodira, C.D., Koehrsen, M., Kumar, L., Lee, Y.-H., Li, L., Manners, J.M., Miranda-Saavedra, D., Mukherjee, M., Park, G., Park, J., Park, S.-Y., Proctor, R.H., Regev, A., Ruiz-Roldan, M.C., Sain, D., Sakthikumar, S., Sykes, S., Schwartz, D.C., Turgeon, B.G., Wapinski, I., Yoder, O., Young, S., Zeng, Q., Zhou, S., Galagan, J., Cuomo, C.A., Kistler, H.C., Rep, M., 2010. Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. *Nature* 464, 367–373. <https://doi.org/10.1038/nature08850>
- Madgwick, J.W., West, J.S., White, R.P., Semenov, M.A., Townsend, J.A., Turner, J.A., Fitt, B.D.L., 2011. Impacts of climate change on wheat anthesis and fusarium ear blight in the UK. *Eur. J. Plant Pathol.* 130, 117–131. <https://doi.org/10.1007/s10658-010-9739-1>
- Mangin, B., Casadebaig, P., Cadic, E., Blanchet, N., Boniface, M.-C., Carrère, S., Gouzy, J., Legrand, L., Mayjonade, B., Pouilly, N., André, T., Coque, M., Piquemal, J., Laporte, M., Vincourt, P., Muñoz, S., Langlade, N.B., 2017. Genetic control of plasticity of oil yield for combined abiotic stresses using a joint approach of crop modelling and

- genome-wide association: Multi-stress plasticity for oil yield in sunflower. *Plant Cell Environ.* 40, 2276–2291. <https://doi.org/10.1111/pce.12961>
- Masel, J., 2011. Genetic drift. *Curr. Biol.* 21, R837–R838. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.08.007>
- McCormick, S.P., Stanley, A.M., Stover, N.A., Alexander, N.J., 2011. Trichothecenes: From Simple to Complex Mycotoxins. *Toxins* 3, 802–814. <https://doi.org/10.3390/toxins3070802>
- McMullen, M., Jones, R., Gallenberg, D., 1997. Scab of Wheat and Barley: A Re-emerging Disease of Devastating Impact. *Plant Dis.* 81, 1340–1348. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.12.1340>
- Merhej, J., Boutigny, A.L., Pinson-Gadais, L., Richard-Forget, F., Barreau, C., 2010. Acidic pH as a determinant of *TRI* gene expression and trichothecene B biosynthesis in *Fusarium graminearum*. *Food Addit. Contam. Part A* 27, 710–717. <https://doi.org/10.1080/19440040903514531>
- Merhej, J., Richard-Forget, F., Barreau, C., 2011. Regulation of trichothecene biosynthesis in *Fusarium*: recent advances and new insights. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 91, 519–528. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3397-x>
- Merhej, J., Urban, M., Dufresne, M., Hammond-Kosack, K.E., Richard-Forget, F., Barreau, C., 2012. The velvet gene, *FgVe1*, affects fungal development and positively regulates trichothecene biosynthesis and pathogenicity in *Fusarium graminearum*: *FgVe1* regulates trichothecene production. *Mol. Plant Pathol.* 13, 363–374. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00755.x>
- Miedaner, T., Juroszek, P., 2021. Climate change will influence disease resistance breeding in wheat in Northwestern Europe. *Theor. Appl. Genet.* 134, 1771–1785. <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03807-0>
- Morel-Journel, T., Thuillier, V., Pennekamp, F., Laurent, E., Legrand, D., Chaine, A.S., Schtickzelle, N., 2020. A multidimensional approach to the expression of phenotypic plasticity. *Funct. Ecol.* 34, 2338–2349. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13667>
- Moretti, A., 2009. Taxonomy of *Fusarium* genus: A continuous fight between lumpers and splitters. *Zb. Matice Srp. Za Prir. Nauke* 7–13. <https://doi.org/10.2298/ZMSPN0917007M>
- Morris, M.R.J., Rogers, S.M., 2013. Overcoming maladaptive plasticity through plastic compensation. *Curr. Zool.* 59, 526–536. <https://doi.org/10.1093/czoolo/59.4.526>
- Moser Tralamazza, S., Nanchira Abraham, L., Reyes-Avila, C.S., Corrêa, B., Croll, D., 2022. Histone H3K27 Methylation Perturbs Transcriptional Robustness and Underpins Dispensability of Highly Conserved Genes in Fungi. *Mol. Biol. Evol.* 39, msab323. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab323>
- Muller, L.A.H., Lucas, J.E., Georgianna, D.R., McCUSKER, J.H., 2011. Genome-wide association analysis of clinical vs. nonclinical origin provides insights into *Saccharomyces cerevisiae* pathogenesis: ANALYSIS OF CLINICAL ORIGIN IN SACCHAROMYCES CEREVISIAE. *Mol. Ecol.* 20, 4085–4097. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05225.x>
- Murren, C.J., Auld, J.R., Callahan, H., Ghalambor, C.K., Handelsman, C.A., Heskell, M.A., Kingsolver, J.G., Maclean, H.J., Masel, J., Maughan, H., Pfennig, D.W., Relyea, R.A., Seiter, S., Snell-Rood, E., Steiner, U.K., Schlichting, C.D., 2015. Constraints on the evolution of phenotypic plasticity: limits and costs of phenotype and plasticity. *Heredity* 115, 293–301. <https://doi.org/10.1038/hdy.2015.8>
- Nasmith, C.G., Walkowiak, S., Wang, L., Leung, W.W.Y., Gong, Y., Johnston, A., Harris, L.J., Guttman, D.S., Subramaniam, R., 2011. *Tri6* Is a Global Transcription Regulator in the

- Phytopathogen *Fusarium graminearum*. PLoS Pathog. 7, e1002266. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002266>
- Nganje, W.E., Bangsund, D.A., Leistritz, F.L., Wilson, W.W., 2002. Estimating the economic impact of a crop disease: the case of fusarium head blight in U.S. wheat and barley.
- Nguyen, T.V., Schäfer, W., Bormann, J., 2012. The Stress-Activated Protein Kinase FgOS-2 Is a Key Regulator in the Life Cycle of the Cereal Pathogen *Fusarium graminearum*. Mol. Plant-Microbe Interactions® 25, 1142–1156. <https://doi.org/10.1094/MPMI-02-12-0047-R>
- Ni, M., Feretzaki, M., Li, W., Floyd-Averette, A., Mieczkowski, P., Dietrich, F.S., Heitman, J., 2013. Unisexual and Heterosexual Meiotic Reproduction Generate Aneuploidy and Phenotypic Diversity De Novo in the Yeast *Cryptococcus neoformans*. PLoS Biol. 11, e1001653. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001653>
- Nica, A.C., Dermitzakis, E.T., 2013. Expression quantitative trait loci: present and future. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 368, 20120362. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0362>
- Nicotra, A.B., Atkin, O.K., Bonser, S.P., Davidson, A.M., Finnegan, E.J., Mathesius, U., Poot, P., Purugganan, M.D., Richards, C.L., Valladares, F., van Kleunen, M., 2010. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. Trends Plant Sci. 15, 684–692. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.09.008>
- Nielsen, L.K., Jensen, J.D., Nielsen, G.C., Jensen, J.E., Spliid, N.H., Thomsen, I.K., Justesen, A.F., Collinge, D.B., Jørgensen, L.N., 2011. Fusarium Head Blight of Cereals in Denmark: Species Complex and Related Mycotoxins. Phytopathology® 101, 960–969. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-10-0188>
- Nielsen, M.E., Papaj, D.R., 2022. Why study plasticity in multiple traits? New hypotheses for how phenotypically plastic traits interact during development and selection. Evolution 76, 858–869. <https://doi.org/10.1111/evo.14464>
- Noble, S.M., Gianetti, B.A., Witchley, J.N., 2017. *Candida albicans* cell-type switching and functional plasticity in the mammalian host. Nat. Rev. Microbiol. 15, 96–108. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.157>
- Obst, A., Lepschy-Von Gleissenthall, J., Beck, R., 1997. On The Etiology of Fusarium Head Blight of Wheat in South Germany - Preceding Crops, Weather Conditions for Inoculum Production and Head Infection, Proneness of The Crop to Infection and Mycotoxin Production. Cereal Res. Commun. 25, 699–703. <https://doi.org/10.1007/BF03543816>
- Pan, D., Mionetto, A., Calero, N., Reynoso, M.M., Torres, A., Bettucci, L., 2016. Population genetic analysis and trichothecene profiling of *Fusarium graminearum* from wheat in Uruguay. Genet. Mol. Res. 15. <https://doi.org/10.4238/gmr.15017270>
- Panwar, V., Aggarwal, A., Paul, S., Singh, V., Singh, P.K., Saharan, M.S., 2016. Effect of temperature and pH on the growth of Fusarium spp. causing Fusarium head blight (FHB) in wheat. South Asian J. Exp. Biol. 6, 186–193. [https://doi.org/10.38150/sajeb.6\(5\).p186-193](https://doi.org/10.38150/sajeb.6(5).p186-193)
- Parry, D.W., Jenkinson, P., McLEOD, L., 1995. Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals a review. Plant Pathol. 44, 207–238. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1995.tb02773.x>
- Patterson, H.D., 1997. Analysis of series of variety trials, in: Kempton, R.A., Fox, P.N., Cerezo, M. (Eds.), Statistical Methods for Plant Variety Evaluation. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 139–161. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-1503-9\\_9](https://doi.org/10.1007/978-94-009-1503-9_9)
- Peirson, Erick, B.R., 2012. Richard Woltereck’s Concept of Reaktionsnorm. Embryo Proj. Encycl.
- Peltier, E., Sharma, V., Martí Raga, M., Roncoroni, M., Bernard, M., Jiranek, V., Gibon, Y., Marullo, P., 2018. Dissection of the molecular bases of genotype x environment

- interactions: a study of phenotypic plasticity of *Saccharomyces cerevisiae* in grape juices. *BMC Genomics* 19, 772. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5145-4>
- Peter Mshelia, L., Selamat, J., Iskandar Putra Samsudin, N., Rafii, M.Y., Abdul Mutalib, N.-A., Nordin, N., Berthiller, F., 2020. Effect of Temperature, Water Activity and Carbon Dioxide on Fungal Growth and Mycotoxin Production of Acclimatised Isolates of *Fusarium verticillioides* and *F. graminearum*. *Toxins* 12, 478. <https://doi.org/10.3390/toxins12080478>
- Pierzgalski, A., Bryła, M., Kanabus, J., Modrzewska, M., Podolska, G., 2021. Updated Review of the Toxicity of Selected Fusarium Toxins and Their Modified Forms. *Toxins* 13, 768. <https://doi.org/10.3390/toxins13110768>
- Pioli, R.N., Mozzoni, L., Morandi, E.N., 2004. First Report of Pathogenic Association Between *Fusarium graminearum* and Soybean. *Plant Dis.* 88, 220–220. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.2.220A>
- Ponts, N., 2015. Mycotoxins are a component of *Fusarium graminearum* stress-response system. *Front. Microbiol.* 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01234>
- Ponts, N., Pinson-Gadais, L., Barreau, C., Richard-Forget, F., Ouellet, T., 2007. Exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and catalase treatments interfere with *Tri* genes expression in liquid cultures of *Fusarium graminearum*. *FEBS Lett.* 581, 443–447. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.01.003>
- Ponts, N., Pinson-Gadais, L., Verdal-Bonnin, M.-N., Barreau, C., Richard-Forget, F., 2006. Accumulation of deoxynivalenol and its 15-acetylated form is significantly modulated by oxidative stress in liquid cultures of *Fusarium graminearum*: DON-ADON accumulation is modulated by oxidative stress. *FEMS Microbiol. Lett.* 258, 102–107. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00200.x>
- Price, T.D., Qvarnström, A., Irwin, D.E., 2003. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 270, 1433–1440. <https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2372>
- Rai, L.S., Singha, R., Brahma, P., Sanyal, K., 2018. Epigenetic determinants of phenotypic plasticity in *Candida albicans*. *Fungal Biol. Rev.* 32, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2017.07.002>
- Ramírez Albuquerque, D., Patriarca, A., Fernández Pinto, V., 2022. Water activity influence on the simultaneous production of DON, 3-ADON and 15-ADON by a strain of *Fusarium graminearum* ss of 15-ADON genotype. *Int. J. Food Microbiol.* 373, 109721. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109721>
- Ramírez Albuquerque, D., Patriarca, A., Fernández Pinto, V., 2021a. Can discrepancies between *Fusarium graminearum* trichothecene genotype and chemotype be explained by the influence of temperature in the relative production of 3-ADON and 15-ADON? *Fungal Biol.* 125, 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.09.004>
- Ramírez Albuquerque, D., Patriarca, A., Fernández Pinto, V., 2021b. Can discrepancies between *Fusarium graminearum* trichothecene genotype and chemotype be explained by the influence of temperature in the relative production of 3-ADON and 15-ADON? *Fungal Biol.* 125, 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.09.004>
- Ramirez, M.L., Chulze, S., Magan, N., 2006. Temperature and water activity effects on growth and temporal deoxynivalenol production by two Argentinean strains of *Fusarium graminearum* on irradiated wheat grain. *Int. J. Food Microbiol.* 106, 291–296. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.09.004>
- Ramirez, M.L., Chulze, S.N., Magan, N., 2004. Impact of osmotic and matric water stress on germination, growth, mycelial water potentials and endogenous accumulation of sugars and sugar alcohols in *Fusarium graminearum*. *Mycologia* 96, 470–478. <https://doi.org/10.1080/15572536.2005.11832946>

- Ravelombola, W., Qin, J., Shi, A., Song, Q., Yuan, J., Wang, F., Chen, P., Yan, L., Feng, Y., Zhao, T., Meng, Y., Guan, K., Yang, C., Zhang, M., 2021. Genome-wide association study and genomic selection for yield and related traits in soybean. *PLOS ONE* 16, e0255761. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255761>
- Rech, G.E., Sanz-Martín, J.M., Anisimova, M., Sukno, S.A., Thon, M.R., 2014. Natural Selection on Coding and Noncoding DNA Sequences Is Associated with Virulence Genes in a Plant Pathogenic Fungus. *Genome Biol. Evol.* 6, 2368–2379. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu192>
- Règlement (UE) 2023/915 concernant les teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires et abrogeant le règlement (CE) no 1881/2006, 2023.
- Ren, G., Yang, H., Li, J., Prabakaran, K., Dai, Z., Wang, X., Jiang, K., Zou, C.B., Du, D., 2020. The effect of nitrogen and temperature changes on *SOLIDAGO CANADENSIS* phenotypic plasticity and fitness. *Plant Species Biol.* 35, 283–299. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12280>
- Richards, T.A., Soanes, D.M., Jones, M.D.M., Vasieva, O., Leonard, G., Paszkiewicz, K., Foster, P.G., Hall, N., Talbot, N.J., 2011. Horizontal gene transfer facilitated the evolution of plant parasitic mechanisms in the oomycetes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 15258–15263. <https://doi.org/10.1073/pnas.1105100108>
- Rodrigues-Pousada, C., Devaux, F., Caetano, S.M., Pimentel, C., Da Silva, S., Cordeiro, A.C., Amaral, C., 2019. Yeast AP-1 like transcription factors (Yap) and stress response: a current overview. *Microb. Cell* 6, 267–285. <https://doi.org/10.15698/mic2019.06.679>
- Rodrigues-Pousada, C.A., Nevitt, T., Menezes, R., Azevedo, D., Pereira, J., Amaral, C., 2004. Yeast activator proteins and stress response: an overview. *FEBS Lett.* 567, 80–85. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.03.119>
- Rossi, V., Ravanetti, A., Patteri, E., Giosuè, S., 2001. Influence of temperature and humidity on the infection of wheat spikes by some fungi causing fusarium head blight. *J. Plant Pathol.* 10.
- Sachdev, S., Ansari, S.A., Ansari, M.I., Fujita, M., Hasanuzzaman, M., 2021. Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: Generation, Signaling, and Defense Mechanisms. *Antioxidants* 10, 277. <https://doi.org/10.3390/antiox10020277>
- Sandhu, N., Raman, K.A., Torres, R.O., Audebert, A., Dardou, A., Kumar, A., Henry, A., 2016. Rice Root Architectural Plasticity Traits and Genetic Regions for Adaptability to Variable Cultivation and Stress Conditions. *Plant Physiol.* 171, 2562–2576. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00705>
- Scheiner, S.M., 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* <https://doi.org/10.1146/annurev.es.24.110193.000343>
- Schlichting, C., Pigliucci, M., 1998. Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sinauer, Sunderland, Mass.
- Selmecki, A., Forche, A., Berman, J., 2006. Aneuploidy and Isochromosome Formation in Drug-Resistant *Candida albicans*. *Science* 313, 367–370. <https://doi.org/10.1126/science.1128242>
- Shama, L.N.S., Wegner, K.M., 2014. Grandparental effects in marine sticklebacks: transgenerational plasticity across multiple generations. *J. Evol. Biol.* 27, 2297–2307. <https://doi.org/10.1111/jeb.12490>
- Sieber, C.M.K., Lee, W., Wong, P., Münsterkötter, M., Mewes, H.-W., Schmeitzl, C., Varga, E., Berthiller, F., Adam, G., Güldener, U., 2014. The *Fusarium graminearum* Genome Reveals More Secondary Metabolite Gene Clusters and Hints of Horizontal Gene Transfer. *PLoS ONE* 9, e110311. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110311>
- Singh, N.K., Tralamazza, S.M., Abraham, L.N., Glauser, G., Croll, D., 2022. Genome-wide association mapping reveals genes underlying population-level metabolome diversity in

- a fungal crop pathogen. *BMC Biol.* 20, 224. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01422-z>
- Slepecky, R.A., Starmer, W.T., 2009. Phenotypic plasticity in fungi: a review with observations on *Aureobasidium pullulans*. *Mycologia* 101, 823–832. <https://doi.org/10.3852/08-197>
- Slot, J.C., Rokas, A., 2011. Horizontal Transfer of a Large and Highly Toxic Secondary Metabolic Gene Cluster between Fungi. *Curr. Biol.* 21, 134–139. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.12.020>
- Sobrova, P., Adam, V., Vasatkova, A., Beklova, M., Zeman, L., Kizek, R., 2010. Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdiscip. Toxicol.* 3. <https://doi.org/10.2478/v10102-010-0019-x>
- Srungarapu, R., Mahendrakar, M.D., Mohammad, L.A., Chand, U., Jagarlamudi, V.R., Kondamudi, K.P., Kudapa, H., Samineni, S., 2022. Genome-Wide Association Analysis Reveals Trait-Linked Markers for Grain Nutrient and Agronomic Traits in Diverse Set of Chickpea Germplasm. *Cells* 11, 2457. <https://doi.org/10.3390/cells11152457>
- Stearns, S.C., 1989. The Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity. *BioScience* 39, 436–445. <https://doi.org/10.2307/1311135>
- Stefansson, T.S., McDonald, B.A., Willi, Y., 2014. The Influence of Genetic Drift and Selection on Quantitative Traits in a Plant Pathogenic Fungus. *PLoS ONE* 9, e112523. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112523>
- Stępień, Ł., Lalak-Kańczugowska, J., 2021. Signaling pathways involved in virulence and stress response of plant-pathogenic *Fusarium* species. *Fungal Biol. Rev.* 35, 27–39. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2020.12.001>
- Stoehr, A.M., Goux, H., 2008. Seasonal phenotypic plasticity of wing melanisation in the cabbage white butterfly, *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae). *Ecol. Entomol.* 33, 137–143. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2007.00931.x>
- Sultan, S.E., 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends Plant Sci.* 5, 537–542. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)
- Sun, C.X., Gao, X.X., Li, M.Q., Fu, J.Q., Zhang, Y.L., 2016. Plastic responses in the metabolome and functional traits of maize plants to temperature variations. *Plant Biol.* 18, 249–261. <https://doi.org/10.1111/plb.12378>
- Sun, H.-Y., Zhu, Y.-F., Liu, Y.-Y., Deng, Y.-Y., Li, W., Zhang, A.-X., Chen, H.-G., 2014. Evaluation of tebuconazole for the management of *Fusarium* head blight in China. *Australas. Plant Pathol.* 43, 631–638. <https://doi.org/10.1007/s13313-014-0309-4>
- Talas, F., Kalih, R., Miedaner, T., McDonald, B.A., 2016. Genome-Wide Association Study Identifies Novel Candidate Genes for Aggressiveness, Deoxynivalenol Production, and Azole Sensitivity in Natural Field Populations of *Fusarium graminearum*. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 29, 417–430. <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-15-0218-R>
- Talas, F., McDonald, B.A., 2015. Genome-wide analysis of *Fusarium graminearum* field populations reveals hotspots of recombination. *BMC Genomics* 16, 996. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2166-0>
- Tan, Y., Zhou, J., Wang, J., Sun, L., 2020. The Genetic Architecture for Phenotypic Plasticity of the Rice Grain Ionome. *Front. Plant Sci.* 11, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00012>
- Taylor, P.D., Day, T., Nagy, D., Wild, G., André, J.-B., Gardner, A., 2006. The evolutionary consequences of plasticity in host–pathogen interactions. *Theor. Popul. Biol.* 69, 323–331. <https://doi.org/10.1016/j.tpb.2005.09.004>
- Tigano A., Friesen V. L., 2016. Genomics of local adaptation with gene flow. *Molecular Ecology.* 25, 2144–2164. <https://doi.org/10.1111/mec.13606>
- Trail, F., 2009. For Blighted Waves of Grain: *Fusarium graminearum* in the Postgenomics Era. *Plant Physiol.* 149, 103–110. <https://doi.org/10.1104/pp.108.129684>

- Tsai, H.-J., Nelliati, A., 2019. A Double-Edged Sword: Aneuploidy is a Prevalent Strategy in Fungal Adaptation. *Genes* 10, 787. <https://doi.org/10.3390/genes10100787>
- Valladares, F., 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytol.*
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D., Zavala, M.A., 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *J. Ecol.* 94, 1103–1116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01176.x>
- Van Heerwaarden, B., Sgrò, C.M., 2017. The quantitative genetic basis of clinal divergence in phenotypic plasticity: genetic basis of plasticity. *Evolution* 71, 2618–2633. <https://doi.org/10.1111/evo.13342>
- Van Nguyen, T., Kröger, C., Bönninghausen, J., Schäfer, W., Bormann, J., 2013. The ATF/CREB Transcription Factor Atf1 Is Essential for Full Virulence, Deoxynivalenol Production, and Stress Tolerance in the Cereal Pathogen *Fusarium graminearum*. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 26, 1378–1394. <https://doi.org/10.1094/MPMI-04-13-0125-R>
- Vidal, A., Morales, H., Sanchis, V., Ramos, A.J., Marín, S., 2014. Stability of DON and OTA during the breadmaking process and determination of process and performance criteria. *Food Control* 40, 234–242. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.11.044>
- Vidal, A., Sanchis, V., Ramos, A.J., Marín, S., 2015. Thermal stability and kinetics of degradation of deoxynivalenol, deoxynivalenol conjugates and ochratoxin A during baking of wheat bakery products. *Food Chem.* 178, 276–286. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.098>
- Vitale, S., Di Pietro, A., Turrà, D., 2019. Autocrine pheromone signalling regulates community behaviour in the fungal pathogen *Fusarium oxysporum*. *Nat. Microbiol.* 4, 1443–1449. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0456-z>
- Waalwijk, C., Vanheule, A., Audenaert, K., Zhang, H., Warris, S., Van De Geest, H., Van Der Lee, T., 2017. *Fusarium* in the age of genomics. *Trop. Plant Pathol.* 42, 184–189. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0128-6>
- Walker, A. -S., Ravigne, V., Rieux, A., Ali, S., Carpentier, F., Fournier, E., 2017. Fungal adaptation to contemporary fungicide applications: the case of *Botrytis cinerea* populations from Champagne vineyards (France). *Mol. Ecol.* 26, 1919–1935. <https://doi.org/10.1111/mec.14072>
- Walter, S., Nicholson, P., Doohan, F.M., 2010. Action and reaction of host and pathogen during *Fusarium* head blight disease. *New Phytol.* 185, 54–66. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03041.x>
- Wang, C., Zhou, J., Liu, J., Jiang, K., 2017. Differences in functional traits between invasive and native *Amaranthus* species under different forms of N deposition. *Sci. Nat.* 104, 59. <https://doi.org/10.1007/s00114-017-1482-4>
- Wang, J., Hasegawa, T., Li, L., Lam, S.K., Zhang, X., Liu, X., Pan, G., 2019. Changes in grain protein and amino acids composition of wheat and rice under short-term increased [CO<sub>2</sub>] and temperature of canopy air in a paddy from East China. *New Phytol.* 222, 726–734. <https://doi.org/10.1111/nph.15661>
- Wang, J., Zhang, Z., 2021. GAPIT Version 3: Boosting Power and Accuracy for Genomic Association and Prediction. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 19, 629–640. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2021.08.005>
- Wang, L., Lin, X., 2012. Morphogenesis in Fungal Pathogenicity: Shape, Size, and Surface. *PLoS Pathog.* 8, e1003027. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003027>
- Ward, T.J., Clear, R.M., Rooney, A.P., O'Donnell, K., Gaba, D., Patrick, S., Starkey, D.E., Gilbert, J., Geiser, D.M., Nowicki, T.W., 2008. An adaptive evolutionary shift in *Fusarium* head blight pathogen populations is driving the rapid spread of more toxigenic

- Fusarium graminearum* in North America. *Fungal Genet. Biol.* 45, 473–484. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2007.10.003>
- Wei Li, Huaigu Chen, 2014. Evaluation of tebuconazole for the management of *Fusarium* head blight in China. *Australasian Plant Pathology* 43(6):631-638. DOI:10.1007/s13313-014-0309-4
- Weiss, L.C., 2019. Sensory Ecology of Predator-Induced Phenotypic Plasticity. *Front. Behav. Neurosci.* 12, 330. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00330>
- Weiszmann, J., Walther, D., Clauw, P., Back, G., Gunis, J., Reichardt, I., Koemeda, S., Jez, J., Nordborg, M., Schwarzerova, J., Pierides, I., Nägele, T., Weckwerth, W., 2023. Metabolome plasticity in 241 *Arabidopsis thaliana* accessions reveals evolutionary cold adaptation processes. *Plant Physiol.* 193, 980–1000. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad298>
- Wen, Y.-J., Zhang, H., Ni, Y.-L., Huang, B., Zhang, J., Feng, J.-Y., Wang, S.-B., Dunwell, J.M., Zhang, Y.-M., Wu, R., 2018. Methodological implementation of mixed linear models in multi-locus genome-wide association studies. *Brief. Bioinform.* 19, 700–712. <https://doi.org/10.1093/bib/bbw145>
- West-Eberhard, M.J., 2003. *Developmental plasticity and evolution*. Oxford University Press, New York.
- West-Eberhard, M.J., 1989. Phenotypic Plasticity and the Origins of Diversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 20 (1989), 249–278.
- Wiedenbeck, J., Cohan, F.M., 2011. Origins of bacterial diversity through horizontal genetic transfer and adaptation to new ecological niches. *FEMS Microbiol. Rev.* 35, 957–976. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00292.x>
- Wilson, W., Dahl, B., Nganje, W., 2018. Economic costs of *Fusarium* Head Blight, scab and deoxynivalenol. *World Mycotoxin J.* 11, 291–302. <https://doi.org/10.3920/WMJ2017.2204>
- Woltereck, R., 1909. Weitere experimentelle Untersuchungen über Artveränderung, speziell über das Wesen quantitativer Artunterschiede bei Daphniden. (“Further investigations of type variation, specifically concerning the nature of quantitative differences between varieties of *Daphnia*.”). *Verhandlungen Dtsch. Zool. Ges.* 19, 110–73.
- Wu, F., Zhou, Y., Shen, Y., Sun, Z., Li, L., Li, T., 2022. Linking Multi-Omics to Wheat Resistance Types to *Fusarium* Head Blight to Reveal the Underlying Mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 2280. <https://doi.org/10.3390/ijms23042280>
- Wuerthner, V.P., Jaeger, J., Garramone, P.S., Loomis, C.O., Pecheny, Y., Reynolds, R., Deluna, L., Klein, S., Lam, M., Hua, J., Meindl, G.A., 2019. Inducible pesticide tolerance in *Daphnia pulex* influenced by resource availability. *Ecol. Evol.* 9, 1182–1190. <https://doi.org/10.1002/ece3.4807>
- Wuyts, J., Van Dijck, P., Holtappels, M., 2018. Fungal persister cells: The basis for recalcitrant infections? *PLOS Pathog.* 14, e1007301. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007301>
- Xu, X.-M., Monger, W., Ritieni, A., Nicholson, P., 2007. Effect of temperature and duration of wetness during initial infection periods on disease development, fungal biomass and mycotoxin concentrations on wheat inoculated with single, or combinations of, *Fusarium* species. *Plant Pathol.* 56, 943–956. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01650.x>
- Xu, X.-M., Nicholson, P., Thomsett, M.A., Simpson, D., Cooke, B.M., Doohan, F.M., Brennan, J., Monaghan, S., Moretti, A., Mule, G., Hornok, L., Beki, E., Tatnell, J., Ritieni, A., Edwards, S.G., 2008. Relationship Between the Fungal Complex Causing *Fusarium* Head Blight of Wheat and Environmental Conditions. *Phytopathology®* 98, 69–78. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-1-0069>



- Yin, Y., Liu, X., Li, B., Ma, Z., 2009. Characterization of Sterol Demethylation Inhibitor-Resistant Isolates of *Fusarium asiaticum* and *F. graminearum* Collected from Wheat in China. *Phytopathology*® 99, 487–497. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-5-0487>
- Yu, F., Gu, Q., Yun, Y., Yin, Y., Xu, J., Shim, W., Ma, Z., 2014. The TOR signaling pathway regulates vegetative development and virulence in *Fusarium graminearum*. *New Phytol.* 203, 219–232. <https://doi.org/10.1111/nph.12776>
- Yu, L., Wang, W., Zhang, X., Zheng, W., 2016. A Review on Leaf Temperature Sensor: Measurement Methods and Application, in: Li, D., Li, Z. (Eds.), *Computer and Computing Technologies in Agriculture IX*, IFIP Advances in Information and Communication Technology. Springer International Publishing, Cham, pp. 216–230. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-48357-3\\_21](https://doi.org/10.1007/978-3-319-48357-3_21)
- Yu, W., Pei, R., Zhang, Y., Tu, Y., He, B., 2023. Light regulation of secondary metabolism in fungi. *J. Biol. Eng.* 17, 57. <https://doi.org/10.1186/s13036-023-00374-4>
- Zeller, K.A., Bowden, R.L., Leslie, J.F., 2004. Population differentiation and recombination in wheat scab populations of *Gibberella zeae* from the United States. *Mol. Ecol.* 13, 563–571. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2004.02098.x>
- Zhan, J., McDonald, B.A., 2011. Thermal adaptation in the fungal pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Mol. Ecol.* 20, 1689–1701. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05023.x>
- Zhang, Y.-M., Jia, Z., Dunwell, J.M., 2019. Editorial: The Applications of New Multi-Locus GWAS Methodologies in the Genetic Dissection of Complex Traits. *Front. Plant Sci.* 10, 100. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00100>
- Zhao, C., Waalwijk, C., De Wit, P.J., Tang, D., Van Der Lee, T., 2014. Relocation of genes generates non-conserved chromosomal segments in *Fusarium graminearum* that show distinct and co-regulated gene expression patterns. *BMC Genomics* 15, 191. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-191>
- Zheng, D., Zhang, S., Zhou, X., Wang, C., Xiang, P., Zheng, Q., Xu, J.-R., 2012. The FgHOG1 Pathway Regulates Hyphal Growth, Stress Responses, and Plant Infection in *Fusarium graminearum*. *PLoS ONE* 7, e49495. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049495>
- Zhong, H., Liu, S., Meng, X., Sun, T., Deng, Y., Kong, W., Peng, Z., Li, Y., 2021. Uncovering the genetic mechanisms regulating panicle architecture in rice with GPWAS and GWAS. *BMC Genomics* 22, 86. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07391-x>
- Zhong, Z., Marcel, T.C., Hartmann, F.E., Ma, X., Plissonneau, C., Zala, M., Ducasse, A., Confais, J., Compain, J., Lapalu, N., Amselem, J., McDonald, B.A., Croll, D., Palma-Guerrero, J., 2017. A small secreted protein in *Zymoseptoria tritici* is responsible for avirulence on wheat cultivars carrying the *Stb6* resistance gene. *New Phytol.* 214, 619–631. <https://doi.org/10.1111/nph.14434>
- Zhou, M., Hu, C., Yin, Y., Wang, J., Ye, S., Yu, Y., Sun, X., Li, S., 2022. Experimental Evolution of Multidrug Resistance in *Neurospora crassa* under Antifungal Azole Stress. *J. Fungi* 8, 198. <https://doi.org/10.3390/jof8020198>

**Titre :** Plasticité phénotypique et potentiel adaptatif chez le champignon phytopathogène *Fusarium graminearum* en réponse aux changements environnementaux.

**Résumé :**

*Fusarium graminearum* est l'un des principaux agents responsables de la fusariose de l'épi, une maladie mondiale affectant les cultures céréalières, dont la présence peut conduire à la contamination des grains par des mycotoxines chimiquement stables et nocives. Dans un contexte de changement climatique, il est indispensable de comprendre la capacité d'adaptation de *F. graminearum* afin de mieux anticiper le risque épidémique lié à l'émergence potentielle de nouveaux isolats adaptés. Le potentiel adaptatif d'une espèce aux changements environnementaux est lié à sa capacité d'évolution génétique et à la plasticité phénotypique des individus de la population. La plasticité phénotypique permet notamment de répondre immédiatement à des modifications de l'environnement. Nous avons caractérisé la plasticité phénotypique pour la production en mycotoxine et la croissance *in vitro*, entre une condition témoin et une condition traitée pour quatre environnements différents : température (E1), composante oxydative (E2), disponibilité en eau (E3) et concentration d'azote du milieu (E4). Nous avons observé que la plasticité phénotypique est variable entre les environnements, les phénotypes et les génotypes suggérant le caractère ubiquitaire de la plasticité phénotypique ainsi que son contrôle génétique. Ensuite, le déterminisme génétique de la plasticité a été étudié à travers une approche de génomique des populations utilisant une étude d'association pangénomique (GWAS) par séquençage du génome entier (WGS). À notre connaissance, il s'agit de la première approche GWAS appliquée aux champignons toxigènes caractérisant la plasticité phénotypique mise en œuvre à ce jour. Nous avons montré que la plasticité phénotypique est sous déterminisme génétique complexe notamment par une architecture liée au modèle épistatique de la plasticité phénotypique, même si l'hypothèse d'une base épigénétique reste probable. Dans une autre partie, nous avons étudié si la mutation est en lien avec la capacité d'adaptation de *F. graminearum*. Nous avons réalisé une évolution expérimentale afin d'explorer la dynamique mutationnelle sous pression de sélection selon différents modes de propagation (mycélium et conidiospores). De faibles différences entre le 1<sup>er</sup> et 19<sup>ème</sup> cycle de propagation sont observées dans les phénotypes des souches ainsi que très peu de mutations ont été retrouvées (seulement pour la propagation végétative). Des hypothèses liées à une pression de sélection insuffisante ou à de la dérive génétique ont été évoqués aux regards de ces résultats. Ensemble, ces résultats posent des bases nouvelles sur l'adaptation phénotypique et génétique du champignon phytopathogène *F. graminearum* face au changement climatique.

**Mots clés :** Changement climatique, plasticité phénotypique, adaptation, mycotoxines

**Title :** Phenotypic plasticity and adaptive potential under changing environment in the phytopathogenic fungus *Fusarium graminearum*

**Abstract :**

*Fusarium graminearum* is a major cause of Fusarium head blight, a worldwide disease affecting cereal crops, the presence of which can lead to contamination of grain with chemically stable and harmful mycotoxins. In the context of climate change, it is essential to understand the adaptive capacity of *F. graminearum* in order to better anticipate the epidemic risk associated with the potential emergence of new adapted isolates. The ability of a species to adapt to environmental change is linked to its capacity for genetic evolution and the phenotypic plasticity of individuals in the population. Phenotypic plasticity allows for an immediate response to changes in the environment. We characterized phenotypic plasticity for mycotoxin production and in vitro growth, between a control condition and a treated condition for four different environments: temperature (E1), oxidative component (E2), water availability (E3) and environmental nitrogen concentration (E4). We observed that phenotypic plasticity was variable between environments, phenotypes, and genotypes, suggesting the ubiquitous nature of phenotypic plasticity as well as its genetic control. The genetic determinism of plasticity was then investigated by a population genomics approach using a genome-wide association study (GWAS) by whole genome sequencing (WGS). To our knowledge, this is the first GWAS approach applied to toxigenic fungi to characterize phenotypic plasticity. We showed that phenotypic plasticity is under complex genetic determinism, in particular through an architecture associated with the epistatic model of phenotypic plasticity, although the hypothesis of an epigenetic basis remains probable. In another part, we investigated whether the mutation is linked to the adaptive capacity of *F. graminearum*. In another part, we investigated whether mutation is related to the adaptive capacity of *F. graminearum*. We carried out an experimental evolution to study the mutation dynamics under selection pressure according to different propagation modes (mycelium and conidiospores). Slight differences between the 1st and 19th propagation cycles are related to the phenotypes of the strains and very few mutations were found (only for vegetative propagation). Hypotheses related to insufficient selection pressure or genetic drift have been raised in relation to these results. Taken together, these results provide new insights into the phenotypic and genetic adaptation of the phytopathogenic fungus *F. graminearum* to climate change.

**Keywords :** Climate change, phenotypic plasticity, adaptation, mycotoxins



## **Unité de recherche UR1264**

Mycologie et sécurité des aliments MycSA

71 avenue Edouard Bourlaux 33140 Villenave d'Ornon