

Equipe	EPLM
Demandeur	TS NGUYEN
Objectif de la demande	Observation et description de la reproduction sexuée chez <i>Leptosphaeria maculans</i>
Contexte de la demande	Projet en cours
Date de la demande	Avril 2021
Période souhaitée	Mai 2021 – Novembre 2021
Durée prévisionnelle	6 mois
Projet associé	Projet non financé

Détails du projet (~1/2 -1 page) Ou Présentation (jusqu'à ~5 pages pptx)	Description de la reproduction sexuée chez <i>Leptosphaeria maculans</i>. Chez <i>L. maculans</i>, champignon pathogène du colza, les ascospores issues de la reproduction sexuée constituent l'inoculum primaire. La description de cette étape de reproduction sexuée n'a cependant jamais été mise en œuvre. Ainsi, les différentes structures spécifiques développées par le champignon au cours de ce moment particulier de son cycle de vie nous sont encore inconnues. L'objectif de ce projet est donc de déterminer la nature des gamètes mâles et femelles, et d'observer la maturation des fructifications après l'évènement de fécondation. Pour ce faire, nous disposons au sein de l'équipe de deux souches sexuellement compatibles, l'une exprimant constitutivement la protéine GFP et l'autre produisant constitutivement la protéine RFP. Par ailleurs, les premiers tests au laboratoire ont permis d'affiner les conditions de reproduction sexuée <i>in vitro</i>, et il est désormais possible de différencier la souche jouant le rôle « femelle » de celle jouant le rôle « mâle ». Cette méthode appelée « croisement orienté » facilitera ainsi les observations. Ce projet nécessite la mise au point et l'optimisation des conditions nécessaire à une analyse en microscopie confocale. En outre, l'étude de chaque croisement sera menée de façon hebdomadaire sur une période de 5 à 6 semaines afin d'analyser les différentes étapes, de la production des gamètes à la formation des premières ascospores. Ces premières observations permettront de mieux comprendre la mise en place de la reproduction sexuée chez <i>L. maculans</i>. Cela favorisera par la suite sa description <i>in natura</i>, sur résidus de colza.
---	--

Matériel/personnels prévu par l'équipe	Deux souches de <i>L. maculans</i> marquées (GFP et RFP) et sexuellement compatibles. Participation au projet : TS NGUYEN
Achats à envisager	Aucun
Budget prévu (oui/non)	Non (si besoin, part jeune chercheur)
Equipement(s) plateforme BIOGER	Microscope confocal
Accès plateforme extérieur	Non
Budget prévu (oui/non)	Non

Equipe	AMAR
Demandeur	Sabine Fillinger
Objectif de la demande	Quelle est la localisation subcellulaire de Cyp684 ?
Contexte de la demande	Complément d'une publication en cours de rédaction par Danièle et Sabine regroupant des travaux d'anciens doctorants. la fusion cyp684-GFP a été faite par Guillaume Fouché en 2017.
Date de la demande	Avril 2021
Période souhaitée	Eté 2021
Durée prévisionnelle	2-3 semaines
Projet associé	L'argent pour acheter le colorant nécessaire (ER-tracker) est disponible dans l'équipe.

Détails du projet (~1/2 -1 page) Ou Présentation (jusqu'à ~5 pages pptx)	La mono-oxygénase à P450 Cyp684 contribue à la résistance naturelle au fenhexamid chez l'espèce <i>Botrytis pseudocinerea</i>. Les prédictions <i>in silico</i> disent que la protéine est adressée au réticulum endoplasmique come beaucoup de P450. Pour le déterminer une fusion traductionnelle entre la protéine Cyp684 et la GFP (en C-ter) a été introduite chez <i>B. cinerea</i>. Des analyses préliminaires par microscopie en fluorescence indiquent en effet un adressage au réticulum endoplasmique. Il s'agirait soit * d'acquérir des images de microscopie fluo de bonne qualité pour publication (Kaori montre le fonctionnement du microscope à Sabine) ; * de faire une étude de co-localisation Cyp-GFP avec un ER-tracker (Kaori en prestation). L'analyse se fera sur du très jeune mycelium en culture axénique (spores germantes, filaments germinatifs)
---	--

Matériel/personnels prévu par l'équipe	Deux transformants indépendants à analyser après culture <i>in vitro</i> de 15h. Très peu de temps de Sabine
Achats à envisager	
Budget prévu (oui/non)	Colorant à acheter éventuellement
Equipement(s) plateforme BIOGER	Microscope à fluorescence.
Accès plateforme extérieur	non
Budget prévu (oui/non)	