

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 Marine Navarro

**Communication entre les *Fusarium* toxinogènes et leurs partenaires
microbiens : rôle des petits ARN**

Sous la direction de : Nadia Ponts

Soutenance prévue le 19 décembre 2025

Membres du jury :

M. Noël Thierry	Professeur Université de Bordeaux	Président du jury
Mme Malagnac Fabienne	Professeure Université de Paris Saclay	Rapporteure
M. Grentzinger Thomas	Senior Scientist, Vienne BioCenter (Autriche)	Rapporteur
Mme Isabelle Fudal	Directrice de Recherche, UR BIOGER - INRAE (Palaiseau)	Examinateuse
M. Jean Philippe Combier	Directeur de Recherche CNRS	Examinateur
Mme Nadia Ponts	Chargée de Recherche, UR MycSA - INRAE (Villenave d'Ornon)	DIRECTRICE DE THÈSE

Communication entre les *Fusarium* toxinogènes et leurs partenaires microbiens : rôle des petits ARN

Le genre *Fusarium* comprend plus de 80 espèces phytopathogènes responsables de la fusariose de l'épi (FHB), une maladie céréalière dévastatrice à l'échelle mondiale. La FHB provoque des pertes économiques importantes et des risques sanitaires liés à la production de mycotoxines, molécules thermostables toxiques pour l'homme et les animaux, si elles sont ingérées. La FHB résulte de l'interaction de plusieurs espèces de *Fusarium*, dont jusqu'à seize espèces différentes. Des études récentes ont montré que le stade d'infection et la production de mycotoxines sont influencés par des interactions intra-microbiennes médiées par un dialogue moléculaire dont les microARNs (miARN). Les miARNs sont de petits ARN non codants, de 18 à 25 nucléotides, qui induisent le silençage génique post-transcriptionnel, dont leur abondance et leur nature est influencé par divers facteurs tels que le stade de développement et les interactions microbiennes. Considérant l'importance des miARNs dans l'interaction entre les microorganismes, cette thèse s'intéresse à étudier les mécanismes moléculaires impliqués dans la communication inter et intra-espèces, avec un volet exploratoire sur les interactions entre *F. graminearum* et des bactéries du phyto-pathosystème. Les objectifs sont de 1) décrire les changements morphologiques et moléculaires qui accompagnent les interactions entre *Fusaria*, 2) d'explorer le rôle de miRNAs fongiques et 3) de décrire les changements transcriptionnels qui accompagnent des interactions *F. graminearum*/bactéries.

Des confrontations *in vitro* ont été réalisées entre *F. graminearum* et plusieurs *Fusaria*. Les analyses macroscopiques et par microscopie confocale ont montré peu de modifications lors des interactions intra-espèces. Au contraire, les interactions inter-espèces ont révélé une inhibition de croissance des souches confrontées à *F. graminearum*, une augmentation de sa sporulation et des variations pigmentaires traduisant un remaniement métabolomique suggérant une relation compétitive établie entre les *Fusaria*. Une approche multi-omique combinant mRNA-seq, smRNA-seq et métabolomique non ciblée a permis d'identifier 934 miARNs fongiques, dont 441 validés *in silico*. Des miARNs « signature » d'une interaction spécifique et différenciellement exprimés en confrontation ont été mis en évidence. L'intégration des données transcriptomiques et métabolomiques suggère que certains miARNs pourraient moduler la défense ou l'attaque lors des interactions inter-espèces, tandis que des oxylipines et autres métabolites secondaires semblent jouer le rôle de médiateurs chimiques de communication. Les interactions inter-espèces induisent des stress nutritifs et oxydatifs ainsi qu'une augmentation de la production de mycotoxines, contrastant avec des interactions intra-espèces relativement neutres. L'étude de la biogénèse des miARNs a identifié, *in silico*, des protéines AGO et DCL dont l'architecture des domaines protéiques suggère des fonctions conservées mais avec des variations de séquences protéiques pouvant indiquer des spécialisations de chargements de miARNs. L'expression des gènes Ago et Dcl est dynamique au cours du temps et est stimulée lors des interactions, corroborant le rôle des miARNs dans la régulation génique. Enfin, les confrontations avec des bactéries du blé ont nécessité le développement d'un dispositif 3D pour standardiser la zone d'interaction. Lors de ces interactions, *F. graminearum* a présenté une inhibition de sa croissance, des variations pigmentaires et une modulation de la production de mycotoxines selon la souche bactérienne rencontrée, révélant un dialogue moléculaire dynamique et spécialisé.

Ainsi, ces travaux fournissent des clés sur la régulation des miARNs chez *Fusarium* et leur rôle de régulateurs géniques lors des interactions. Les interactions entre *F. graminearum* et d'autres partenaires microbiens est très complexe, spécifique à la souche rencontrée et dynamique au cours du temps.

Mots clés: *Fusarium*, microARNs, interactions hôte-pathogène, régulation, communication

Communication between toxinogenic *Fusarium* and their microbial partners: the role of small RNAs

The *Fusarium* genus contains more than 80 phytopathogenic species causing *Fusarium* head blight (FHB), a devastating cereal disease worldwide. FHB causes significant economic losses and health risks linked to the production of mycotoxins, thermostable molecules that are toxic to humans and animals if ingested. FHB results from interaction between several *Fusarium* species, including up to 16 different species. Recent studies have shown that the stage of infection and mycotoxin production are influenced by intra-microbial interactions mediated by molecular dialogue involving microRNAs (miRNAs). miRNAs are small non-coding RNAs, 18 to 25 nucleotides in length, that induce post-transcriptional gene silencing, the abundance and nature of which are influenced by various factors such as the stage of development and microbial interactions. Considering the importance of miRNAs in the interaction between microorganisms, this thesis focuses on studying the molecular mechanisms involved in inter- and intra-species communication, with an exploratory section on the interactions between *F. graminearum* and bacteria in the phytopathosystem. The aims are to 1) describe the morphological and molecular changes that accompany interactions between *Fusaria*, 2) explore the role of fungal miRNAs, and 3) describe the transcriptional changes that accompany *F. graminearum*/bacteria interactions.

In vitro confrontations were performed between *F. graminearum* and several *Fusarium* species. Macroscopic and confocal microscopy analyses showed limited changes during intra-species interactions. Conversely, inter-species interactions revealed growth inhibition in strains confronted with *F. graminearum*, increased sporulation, and pigment variations reflecting metabolomic changes, suggesting a competitive relationship between *Fusarium* species. A multi-omic approach combining mRNA-seq, smRNA-seq, and untargeted metabolomics identified 934 fungal miRNAs, 441 of which were validated in silico. Signature miRNAs specific to a particular interaction and differentially expressed during confrontation were identified. The integration of transcriptomic and metabolomic data suggests that certain miRNAs could modulate defense or attack during interspecies interactions, while oxylipins and other secondary metabolites appear to play the role of chemical communication mediators. Inter-species interactions induce nutritional and oxidative stress as well as increased mycotoxin production, in contrast to relatively neutral intra-species interactions.

The study of miRNA biogenesis has identified, in silico, AGO and DCL proteins whose protein domain architecture suggests conserved functions but with protein sequence variations that may indicate specialization in miRNA loading. The expression of Ago and Dcl genes is dynamic over time and is stimulated during interactions, corroborating the role of miRNAs in gene regulation. Finally, confrontations with wheat bacteria required the development of a 3D device to standardize the interaction zone. During these interactions, *F. graminearum* presented growth inhibition, pigment variations, and modulation of mycotoxin production depending on the bacterial strain encountered, revealing a dynamic and specialized molecular dialogue. Thus, this research provides insights into the regulation of miRNAs in *Fusarium* and their role as gene regulators during interactions. The interactions between *F. graminearum* and other microbial partners are highly complex, specific to the strain encountered, and dynamic over time.

Keywords: *Fusarium*, microRNAs, host-pathogen interaction, regulation, communication

INRAE

Mycologie et Sécurité des Aliments (MycSA), UR1264

71 avenue Edouard Bourlaux 33140, Villenave d'Ornon, France



