

Projet ANR-18-SUSCROP-001

PotatoMETAbiome

Programme Eranet Suscrop 2018

A	IDENTIFICATION.....	2
B	RESUME CONSOLIDE PUBLIC	3
B.1	Instructions pour les résumés consolidés publics	3
B.2	Résumé consolidé public en français	4
B.3	Résumé consolidé public en anglais.....	7
C	MEMOIRE SCIENTIFIQUE.....	9
C.1	Résumé du mémoire	10
C.2	Enjeux et problématique, état de l'art	10
C.3	Approche scientifique et technique.....	11
C.4	Résultats obtenus	13
C.5	Exploitation des résultats.....	13
C.6	Discussion	14
C.7	Conclusions.....	14
C.8	Références.....	14
D	LISTE DES LIVRABLES.....	15
E	IMPACT DU PROJET	17
E.1	Indicateurs d'impact	17
E.2	Liste des publications et communications.....	18
E.3	Liste des éléments de valorisation.....	19
E.4	Bilan et suivi des personnels recrutés en CDD (hors stagiaires)	20

Ce document est à remplir par le coordinateur en collaboration avec les partenaires du projet. L'ensemble des partenaires doit avoir une copie de la version transmise à l'ANR.

Ce modèle doit être utilisé uniquement pour le compte-rendu de fin de projet.

A IDENTIFICATION

Acronyme du projet	PotatoMETAbiome
Titre du projet	Harnessing the potato-microbiome interactions for development of sustainable breeding and production strategies
Coordinateur du projet pour la partie française (société/organisme)	Eléonore ATTARD (IPREM UMR 5254, CNRS UPPA)
Coordinateur du projet (société/organisme)	Joana FALCAO SALLES (Université de Gröningen, Pays-Bas)
Période du projet (date de début – date de fin)	1 mars 2019 28 février 2023
Site web du projet, le cas échéant	https://www.potatometabiome.eu

Rédacteur de ce rapport	
Civilité, prénom, nom	Dr Eléonore ATTARD
Téléphone	0618956261
Adresse électronique	Eleonore.attard@univ-pau.fr
Date de rédaction	Fevrier 2023

Si différent du rédacteur, indiquer un contact pour le projet	
Civilité, prénom, nom	
Téléphone	
Adresse électronique	

Liste des partenaires présents à la fin du projet (société/organisme et responsable scientifique)	<p>Joana FALCAO SALLES (Université de Gröningen, Pays-Bas)</p> <p>Prof Michael Schlöter Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan Chair for Soil Science, GERMANY</p> <p>Prof Gabriele Berg Graz University of Technology, Institute of Environmental Biotechnology, AUSTRIA</p> <p>Dr Achim Schmalenberger University of Limerick, Biological Sciences, IRELAND</p> <p>Dr Mariusz Maciejczak Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Faculty of Economic Sciences, POLAND</p> <p>Prof Magdalena Frać Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Department of Soil and Plant System, POLAND</p> <p>Dr Krzysztof Treder Plant Breeding and Acclimatization Institute - National Research Institute, Bonin Research Center, POLAND</p>
---	--

	<p>Dr Ellen Zuther Max-Planck-Gesellschaft zur Foerderung der Wissenschaften e.V., Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Potsdam, GERMANY</p> <p>Pr Rémy Guyoneaud UMR 5254 IPREM University of Pau, Pau, FRANCE</p>
--	--

B RESUME CONSOLIDE PUBLIC

Ce résumé est destiné à être diffusé auprès d'un large public pour promouvoir les résultats du projet, il ne fera donc pas mention de résultats confidentiels et utilisera un vocabulaire adapté mais n'excluant pas les termes techniques. Il en sera fourni une version française et une version en anglais. Il est nécessaire de respecter les instructions ci-dessous.

B.1 INSTRUCTIONS POUR LES RESUMES CONSOLIDES PUBLICS

Les résumés publics en français et en anglais doivent être structurés de la façon suivante.

Titre d'accroche du projet (environ 80 caractères espaces compris)

Titre d'accroche, si possible percutant et concis, qui résume et explicite votre projet selon une logique grand public : il n'est pas nécessaire de présenter exhaustivement le projet mais il faut plutôt s'appuyer sur son aspect le plus marquant.

Les deux premiers paragraphes sont précédés d'un titre spécifique au projet rédigé par vos soins.

Titre 1 : situe l'objectif général du projet et sa problématique (150 caractères max espaces compris)

Paragraphe 1 : (environ 1200 caractères espaces compris)

Le paragraphe 1 précise les enjeux et objectifs du projet : indiquez le contexte, l'objectif général, les problèmes traités, les solutions recherchées, les perspectives et les retombées au niveau technique ou/et sociétal

Titre 2 : précise les méthodes ou technologies utilisées (150 caractères max espaces compris)

Paragraphe 2 : (environ 1200 caractères espaces compris)

Le paragraphe 2 indique comment les résultats attendus sont obtenus grâce à certaines méthodes ou/et technologies. Les technologies utilisées ou/et les méthodes permettant de surmonter les verrous sont explicitées (il faut éviter le jargon scientifique, les acronymes ou les abréviations).

Résultats majeurs du projet (environ 600 caractères espaces compris)

Faits marquants diffusables en direction du grand public, expliciter les applications ou/et les usages rendus possibles, quelles sont les pistes de recherche ou/et de développement originales, éventuellement non prévues au départ.

Préciser aussi toute autre retombée= partenariats internationaux, nouveaux débouchés, nouveaux contrats, start-up, synergies de recherche, pôles de compétitivités, etc.

Production scientifique et brevets depuis le début du projet (environ 500 caractères espaces compris)

Ne pas mettre une simple liste mais faire quelques commentaires. Vous pouvez aussi indiquer les actions de normalisation

Illustration

Une illustration avec un schéma, graphique ou photo et une brève légende. L'illustration doit être clairement lisible à une taille d'environ 6cm de large et 5cm de hauteur. Prévoir une résolution suffisante pour l'impression. Envoyer seulement des illustrations dont vous détenez les droits.

Informations factuelles

Rédiger une phrase précisant le type de projet (recherche industrielle, recherche fondamentale, développement expérimental, exploratoire, innovation, etc.), le coordonnateur, les partenaires, la date de démarrage effectif, la durée du projet, l'aide ANR et le coût global du projet, par exemple « Le projet XXX est un projet de recherche fondamentale coordonné par xxx. Il associe aussi xxx, ainsi que des laboratoires xxx et xxx). Le projet a commencé en juin 2006 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de xxx € pour un coût global de l'ordre de xxx € »

B.2 RESUME CONSOLIDE PUBLIC EN FRANÇAIS

Suivre impérativement les instructions ci-dessus.

PotatoMETAbiome : un projet ciblant à la fois les plantes et leur microbiome pour améliorer la culture de la pomme de terre en termes d'efficacité et de durabilité de la production.

Les stratégies de sélection actuelles reposent souvent sur des intrants élevés (engrais/pesticides) où les plantes sont considérées comme les seuls acteurs, sans tenir compte des caractéristiques des plantes qui peuvent améliorer le recrutement des microbes bénéfiques du sol. Le concept de ce projet est que les plantes interagissent naturellement avec ces microbes bénéfiques, les rendant moins dépendantes des intrants synthétiques. Par exemple, les variétés de plantes avec une biomasse racinaire et une exsudation de carbone accrues devraient être capables de recruter plus efficacement le microbiote bénéfique du sol que les variétés conventionnelles, sélectionnées pour travailler seules et avec une forte disponibilité en nutriments. Cette approche sera particulièrement pertinente pour la culture de la pomme de terre où de nombreuses variétés ont des systèmes racinaires sous-développés.

PotatoMETAbiome vise donc à identifier les génotypes de pomme de terre qui interagissent efficacement avec le microbiome du sol, générant ainsi des cultivars moins dépendants des intrants externes tout en maintenant un rendement élevé, dans des conditions de non-stress ainsi que de stress biotiques et abiotiques.

Plus précisément, au sein de ce projet impliquant 7 partenaires académiques européens (programme Era-net Suscrop, ANR) aux Pays-Bas, en Allemagne, en Irlande, en Autriche et en Pologne, notre objectif était de cibler les endophytes, ces micro-organismes vivant à l'intérieur des tissus des plantes. En effet, en interagissant étroitement avec leur hôte ces endophytes peuvent fournir de nombreuses fonctions bénéfiques aux plantes.

Aperçu de la diversité endophytique microbienne à partir des génotypes de pomme de terre sélectionnés pour obtenir un large éventail de traits d'interaction avec le microbiome

Une sélection par étape de génotypes de pommes de terre représentant un large éventail de traits d'interaction sur le microbiome (TIM) a été réalisée. A partir de 750 génotypes, 150 ont été sélectionnés et caractérisés en fonction de leur exsudation racinaire. Ces résultats ont conduit à la sélection de 50 génotypes représentant une large distribution de TIM, qui ont été testés dans une expérience en serre, pour vérifier leur capacité à sélectionner le microbiome du sol. Plus précisément, la diversité du microbiome endophyte a été analysée pour les 50 génotypes dans 2 sols naturels différents (en Allemagne et aux Pays-Bas). Nous avons également inclus une sous-sélection de 10 génotypes cultivés *in vitro* utilisés comme « ligne de base » pour analyser la différence de la communauté endophyte cultivée en sol *vs.* celle

sans sol. La surface des racines a été stérilisée et l'ADN des endophytes a été extrait à l'aide du kit DNeasy plant pro (Qiagen). Les amplicons de la région V4 du gène ARN 16S pour la communauté bactérienne et les régions 5.8S R et ITS 4 pour la communauté fongique ont été séquencés à l'aide de Miseq Illumina. Les données obtenues ont été traitées dans Qiime 2 et l'analyse statistique a été effectuée à l'aide des logiciels Primer7 et R studio. Une PCR quantitative a été réalisée pour évaluer l'abondance des groupes microbiens impliqués dans le cycle de l'azote dans la rhizosphère sur la pomme de terre cultivée avec et sans fertilisation azotée (en Irlande).

Principaux résultats

La diversité des communautés bactériennes endophytes diffèrent significativement entre les plantes ayant poussé dans les 2 sols et celles ayant poussé *in vitro* mais pas entre les génotypes de pomme de terre. Cela montre que les conditions de croissance sont le principal facteur expliquant les changements de diversité β . Pour les communautés endophytes fongiques, les conditions du sol sont également un facteur important, mais nous pouvons également voir certains effets des génotypes dans la détermination de la β -diversité endophyte fongique. Cela met en évidence des patrons différents entre les diversités des communautés endophytes bactériennes et fongiques. Dans l'ensemble, les conditions du sol plutôt que le transfert vertical semblent être la principale source d'entrée pour les endophytes.

Production scientifique

Notre projet a été profondément affecté par la situation du COVID, entraînant notamment moins de présentations en congrès. Cependant, nos résultats ont été présentés à l'ISME18, 18e Symposium international sur l'écologie microbienne, en août 2022 à Lausanne, en Suisse. Le titre du poster était « Impact des génotypes du sol et de la pomme de terre sur la diversité des communautés endophytes microbiennes ». Deux publications seront soumises d'ici juillet 2023 ; 1 autre d'ici fin 2023 et une quatrième en 2024.

Illustration

Dans potatoMETAbiome, nous avons proposé de cibler à la fois les stratégies des plantes et du microbiome pour améliorer la culture de la pomme de terre en termes d'efficacité et de durabilité de la production. PotatoMETAbiome ouvrira ainsi la voie à de nouveaux produits et stratégies biologiques, et à des cibles de sélection de plantes adaptées à une production durable. Source JF Salles.



Informations factuelles

Le projet PotatoMETAbiome est un projet de recherche fondamentale de l'appel à projet Era-net Suscrop coordonné par Joana Falcao Salles (University of Groningen, NETHERLANDS) pour l'ensemble des partenaires européens et Eléonore ATTARD pour la partie française (Université de Pau et des Pays de l'Adour). Il associe aussi Michael Schloter (Technische Universität München, GERMANY), Gabriele Berg (Graz University of Technology, AUSTRIA), Achim Schmalenberger (University of Limerick, IRELAND), Mariusz Maciejczak (Warsaw University of Life Sciences, POLAND), Magdalena Frąc, Institute of Agrophysics, POLAND), Krzysztof Treder, Bonin Research Center, POLAND), Dr Dirk Hinch (Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Potsdam, GERMANY). Le projet a commencé en mars 2019 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR pour la partie française de 155 k€ pour un coût global de l'ordre de 1 730 k€.

B.3 RESUME CONSOLIDE PUBLIC EN ANGLAIS

Suivre impérativement les instructions ci-dessus.

PotatoMETAbiome a project targeting both plant and microbiome to improve potato cropping with respect to production efficiency and sustainability.

Current breeding strategies rely heavily on high inputs (fertilizers/pesticides) where plants are considered as sole players, disregarding plant traits that can improve the recruitment of beneficial soil microbes. The concept of this project is that plants naturally interact with these beneficial microbes, making them less dependent on synthetic inputs. For instance, plant varieties with increased root biomass and carbon exudation should be able to recruit beneficial soil microbiota more efficiently than conventional varieties, selected to work alone and on high nutrient availability. This approach will be particularly beneficial for potato cultivation where many varieties have underdeveloped root systems.

PotatoMETAbiome aims at identifying potato genotypes that interact effectively with the soil microbiome, thus generating cultivars with reduced dependencies on external inputs while maintaining high yield, under non-stress as well as biotic and abiotic stress conditions.

More precisely, in this project involving 7 european academic partners (call Era-net Suscrop/ ANR) in the Netherlands (with the PI), Germany, Austria, Ireland and Poland, our aim was to focus on the endophytes, these micro-organisms living inside the tissues of plants. Indeed, as they interact closely with their host, endophytes can provide many beneficial functions to the plants.

Insights into the microbial endophytic diversity and rhizospheric abundance of potato genotypes selected to obtain a wide range of microbiome-interactive traits

A stepdown selection of potato genotypes representing a wide range of microbiome-interactive traits (MIT) has been performed. Starting with 750 genotypes, 150 were selected and characterized in terms of their root exudation. These results lead to the selection of 50 genotypes representing a wide distribution of MITs, which were tested in a greenhouse experiment, to verify their ability to select soil microbiome. More precisely, endophytic microbiome diversity was analyzed for the 50 genotypes in 2 different natural soils (in Germany and the Netherlands). We also included a sub-selection of 10 genotypes grown *in vitro* used as a "baseline", ie to analyse the difference in the endophytic community grown in soil *vs.* without soil. Roots were surface sterilized and DNA from endophytes was extracted using the DNeasy plant pro kit (Qiagen). Amplicons of the V4 region of the 16S RNA gene for the bacterial community and the 5.8S R and ITS 4 regions for the fungal community were sequenced using Miseq Illumina. The obtained data were processed in Qiime 2 and statistical analysis run using Primer7 and R studio softwares. Quantitative PCR was performed to assess abundance of microbial groups involved in N cycling in the rhizosphere on potato grown with and without N fertilization (in Ireland).

Main results

The diversity of the bacterial endophytic community significantly differs between the 2 soils and the *in vitro* samples but not between potato genotypes. This shows that growing conditions are the main factor explaining changes in β -diversity. For the fungal endophytic community, soil conditions are also a significant factor but we can also see some genotypes effects in determining the fungal endophytic β -diversity. This likely highlights different patterns between diversities of bacterial and fungal endophytic communities. Overall, soil

conditions rather than vertical transfer seem to be the main source of entry for the endophytes.

Scientific Output

Our project has been affected by the COVID situation, leading to less presentations in congress. However, our results have been presented at the ISME18, 18th International Symposium on Microbial Ecology, in August 2022 in Lausanne, Switzerland. The title of the poster was "Impact of soil and potato genotypes on the diversity of microbial endophytic communities". Two publications will be submitted by July 2023 1 other by the end of 2023 and a last one in 2024.

Illustration



In potatoMETAbiome we proposed to target both plant and microbiome strategies to improve potato cropping with respect to production efficiency and sustainability. PotatoMETAbiome will thus pave the way for new biological products and strategies, and breeding targets for plants suitable for sustainable production. Source Joana Falcao Salles

Factual Information

The PotatoMETAbiome project is a fundamental research project of the Era-net Suscrop call coordinated by Joana Falcao Salles (University of Groningen, NETHERLANDS) for all the European partners and Eleonore ATTARD for the French part (University of Pau and of the Pays de l'Adour). It also associates Michael Schloter (Technische Universität München, GERMANY), Gabriele Berg (Graz University of Technology, AUSTRIA), Achim Schmalenberger (University of Limerick, IRELAND), Mariusz Maciejczak (Warsaw University of Life Sciences, POLAND), Magdalena Frąc (Institute of Agrophysics, POLAND), Krzysztof Treder (Bonin Research Center, POLAND), Dr Dirk Hinch (Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Potsdam, GERMANY). The project started in March 2019 and lasted 48 months. It benefited from an ANR grant for the French part of 155 k€ for an overall cost of around 1,730 k€.

MEMOIRE SCIENTIFIQUE

Maximum 5 pages. On donne ci-dessous des indications sur le contenu possible du mémoire. Ce mémoire peut être accompagné de rapports annexes plus détaillés.

Le mémoire scientifique couvre la totalité de la durée du projet. Il doit présenter une synthèse auto-suffisante rappelant les objectifs, le travail réalisé et les résultats obtenus mis en perspective avec les attentes initiales et l'état de l'art. C'est un document d'un format semblable à celui des articles scientifiques ou des monographies. Il doit refléter le caractère collectif de l'effort fait par les partenaires au cours du projet. Le coordinateur prépare ce rapport sur la base des contributions de tous les partenaires. Une version préliminaire en est soumise à l'ANR pour la revue de fin de projet.

Un mémoire scientifique signalé comme confidentiel ne sera pas diffusé. Justifier brièvement la raison de la confidentialité demandée. Les mémoires non confidentiels seront susceptibles d'être diffusés par l'ANR, notamment via les archives ouvertes <http://hal.archives-ouvertes.fr>.

Mémoire scientifique confidentiel : oui / non

B.4 RESUME DU MEMOIRE

Ce résumé peut être repris du résumé consolidé public.

Current breeding strategies rely heavily on high inputs (fertilizers/pesticides) where plants are considered as sole players, disregarding plant traits that can improve the recruitment of beneficial soil microbes. The concept of this project is that plants naturally interact with these beneficial microbes, making them less dependent on synthetic inputs. For instance, plant varieties with increased root biomass and carbon exudation should be able to recruit beneficial soil microbiota more efficiently than conventional varieties, selected to work alone and on high nutrient availability. This approach will be particularly beneficial for potato cultivation where many varieties have underdeveloped root systems.

PotatoMETAbiome aims at identifying potato genotypes that interact effectively with the soil microbiome, thus generating cultivars with reduced dependencies on external inputs while maintaining high yield, under non-stress as well as biotic and abiotic stress conditions.

More precisely, in this large project (from the European Era-net Suscrop call), our aim was to focus on the endophytes, the organisms living inside the tissues of plants, as they interact closely with their host and can provide many beneficial functions to the plants.

A stepdown selection of potato genotypes representing a wide range of microbiome-interactive traits (MIT) has been performed. Starting with 750 genotypes, 150 were selected and characterized in terms of their root exudation. These results lead to the selection of 50 genotypes representing a wide distribution of MITs, which were tested in a greenhouse experiment, to verify their ability to select soil microbiome. More precisely, endophytic microbiome diversity was analyzed for the 50 genotypes in 2 different natural soils (in Germany and the Netherlands). We also included a sub-selection of 10 genotypes grown *in vitro* used as a "baseline", ie to analyse the difference in the endophytic community grown in soil *vs.* without soil. Roots were surface sterilized and DNA from endophytes was extracted using the DNeasy plant pro kit (Qiagen). Amplicons of the V4 region of the 16S RNA gene for the bacterial community and the 5.8S R and ITS 4 regions for the fungal community were sequenced using Miseq Illumina. The obtained data were processed in Qiime 2 and statistical analysis run using Primer7 and R studio softwares. Quantitative PCR was performed to assess abundance of microbial groups involved in N cycling in the rhizosphere on potato grown with and without N fertilization (in Ireland).

The diversity of the bacterial endophytic community significantly differs between the 2 soils and the *in vitro* samples but not between potato genotypes. This shows that growing conditions are the main factor explaining changes in β -diversity. For the fungal endophytic community, soil conditions are also a significant factor but we can also see some genotypes effects in determining the fungal endophytic β -diversity. This highlights different patterns between diversities of bacterial and fungal endophytic communities. Overall, soil conditions rather than vertical transfer seem to be the main source of entry for the endophytes.

B.5 ENJEUX ET PROBLEMATIQUE, ETAT DE L'ART

Présenter les enjeux initiaux du projet, la problématique formulée par le projet, et l'état de l'art sur lequel il s'appuie. Présenter leurs éventuelles évolutions pendant la durée du projet (les apports propres au projet sont présentés en B.7).

Current breeding strategies rely heavily on high inputs (fertilizers/pesticides) where plants are considered as sole players, disregarding plant traits that can improve the

recruitment of beneficial soil microbes. Different studies have shown that domesticated plants have a relatively limited ability to interact with their microbiota as compared with their wild relatives (review from 1). As a consequence, conventional practices have resulted in low nutrient use efficiencies, groundwater pollution and increased soil erosion to non-sustainable levels. High loads of synthetic and organic fertilizers as well as synthetic pesticides have made many beneficial soil biota, especially microbes, redundant. Their multifunctional ecosystem services have been replaced with single-purpose synthetic additives designed to support and protect plants directly, and their interactions with the plant have been neglected in breeding strategies.

The concept of PotatoMETAbiome project lies on the principle that plants naturally interact with beneficial (soil) microbes, making them less dependent on synthetic inputs. The main aim of the project is thus to understand how considering the potato microbiome can improve breeding strategies. In this large project (from the European Era-net Suscrop call), our main aim at the University of Pau was to target the endophytes. Indeed, microbial endophytes have been found in every tissue of the host plant². Endophytes can help in increasing the productivity of plants by providing several biological functions like nitrogen fixation, phosphate solubilization, production of secondary metabolites and hormones to protect plants against pathogens as well as help in increasing tolerance against abiotic stresses³. Endophytes can also help to detoxify harmful compounds such as NH₃ or CN⁴. Many endophytes are found to be beneficial as plant growth promoters and have been applied as biofertilizers and biopesticides/bio-fungicides through a foliar application, root dipping, soaking of seeds, stem injection as well as soil drenching^{5,6}. Studies have shown that the variation in the diversity of endophytes in plants can be dependent on the host intrinsic factors. For instance, different endophytic communities have been observed between different rice cultivars⁷. Indeed, root exudates, as well as root architecture, differ not only between the plant species but also within the different genotypes of the same plant species⁸. Based on these root exudates, it was proposed that plants have the potential to recruit soil microbial communities within the rhizosphere¹.

B.6 APPROCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE

1. Stepwise selection of potato genotypes representing a wide range of microbiome-interactive traits (MIT).

We started with a selection of 750 potato genotypes, characterized mostly by their ability to resist several pathogens. From those we selected 150 that were grown in vitro conditions, in the absence of microorganisms, and characterized in terms of their root exudation (quality and quantity). These results lead to the selection of 50 genotypes representing a wide distribution of MITs. These genotypes were tested in a greenhouse experiment, in 2 natural soils from the Netherlands and Germany. We then analyzed the rhizospheric fungal and bacterial diversity (amplicons 16S, ITS sequenced using Miseq, Illumina) to select a subset of 10 genotypes representing a wide range of MIT to be tested in further experiments where plants have been submitted to drought and different N fertilization levels. Besides, to

characterize the “functions” of the rhizospheric microbiome, using qPCR, we assessed the abundance of N-cycle genes associated with denitrification (*nirK*, *nirS*, *nosZI* and *II*), biological nitrogen fixation (*nifH*) and nitrification (bacterial and archaeal *amoA*) in the greenhouse experiment performed in Ireland (10 genotypes, 2 levels of N fertilization).

2. Analysis of the diversity of the endophytic microbial community

Four specific aims were developed and represented in Figure 2:

1. Which is the core microbial community in the potato? How do the 50 genotypes and the 2 soil conditions affect the diversity of the endophytic microbial community associated with the roots of potato plants? Box 1 in Fig 2

We added the analysis of 10 genotypes of potatoes grown in vitro which were used as a “baseline”, ie to analyse the difference in the endophytes grown in soil *vs.* without soil

2. How environmental stress, ie N fertilization and drought affect the microbial endophytic community of 10 genotypes? Box 2 in Fig 2.

3. How do the plant developmental stages affect the diversity of microbial endophytes? What are the endophytic communities specific to each developmental stage of potato? Is the endophytic community in potatoes equally distributed in the leaves, stems, and roots (Plant organs) of potato plants? Box 3 in Fig 2

4. Which is the major source of potato endophytes; soil or tuber? What will be the consequences for the fate of the endophytes due to shifting in the soils? Box 1 and box 3

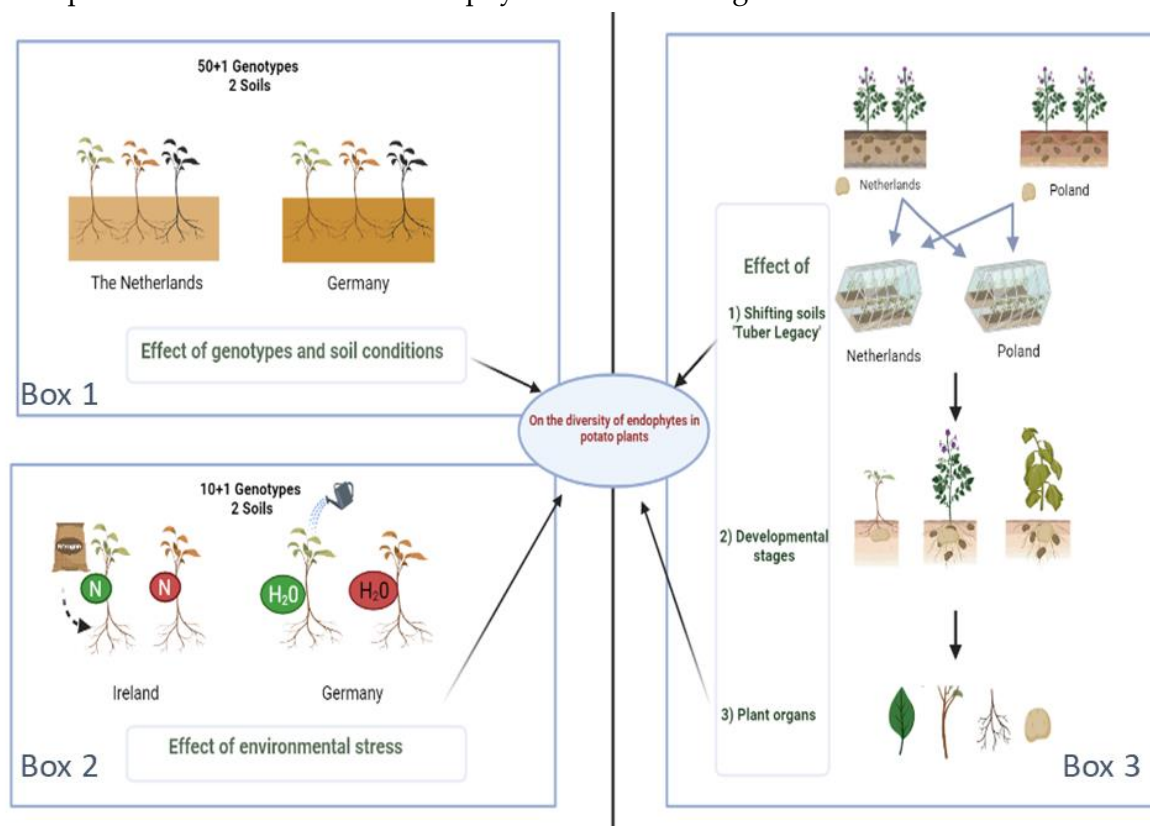


Figure 2: Project structure outlining the 4 themes specifically studied at University of Pau Box 1: Effect of potato genotypes and soils conditions on the diversity of the endophytic community; Box 2: Effect of N fertilization and drought on the diversity of the endophytic community for 10 potato genotypes; Box 3: Effect of plant growth stage, plant tissue and legacy on the diversity of the endophytic

community for 3 potato genotypes. “+1” corresponds to “Desiree” a commercial potato genotype used as a reference in each experiment.

B.7 RESULTATS OBTENUS

Positionner les résultats par rapports aux livrables du projet et aux publications, brevets etc. Revisiter l'état de l'art et les enjeux à la fin du projet.

The diversity of the bacterial endophytic community significantly differs between Germany, The Netherlands and *in vitro* root samples but not between potato genotypes (Fig. 3). This shows that growing conditions are the main factor explaining changes in β -diversity. Only 10 ASVs composed the core community, representing 74%, 48% and 67% of total ASVs counts in *in vitro*, Germany and The Netherlands respectively (Fig. 4). Whereas the bacterial endophytic communities in the *in vitro* samples were mainly composed of spore-forming bacteria (Paenibacillaceae), in soil grown conditions, the bacterial endophytic communities shifted towards bacteria belonging to non-spore forming species like *Pseudomonas*.

For the fungal endophytic communities, soil conditions are also a significant factor in shaping the β -diversity but (i) it does not seem to have as high effect as for the bacterial endophytic community and (ii) in contrary to the 16S results, we can also see some genotypes effects in determining the fungal endophytic β -diversity.

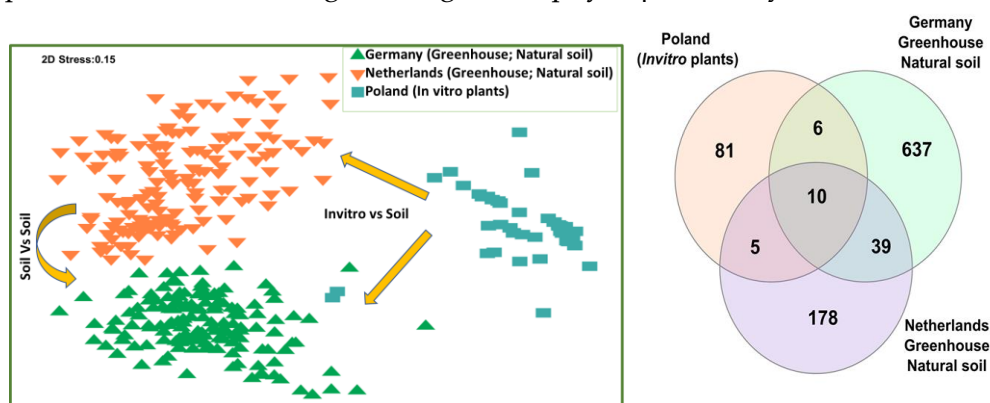


Figure 3: NMDS of the bacterial endophytic diversity for the 50 genotypes from the 2 soils and 10 genotypes from *in vitro* plantlets.

Figure 4: Venn Diagramm at the ASVs level for endophytic bacteria.

B.8 EXPLOITATION DES RESULTATS

Although the full microbiome characterization of the 50 genotypes, in terms of microbiome interactions and associated plant metabolomics and transcriptomics, have not been finalized yet due to the delays caused by the COVID, the preliminary results are very promising. For instance, we observed a great variability in microbiome association, resistance to stress and root and shoot biomass, among the 50 potato genotypes, suggesting that the future identification of plant associated will be successful.

Despite the delays associated with the pandemic, we are positive that PotatoMETAbiome will contribute to the achievement of sustainable potato cropping by integrating biological, social, economic and environmental dimensions while addressing smart breeding strategies, sustainable production and climate challenges.

B.9 DISCUSSION

Discussion sur le degré de réalisation des objectifs initiaux, les verrous restant à franchir, les ruptures, les élargissements possibles, les perspectives ouvertes par le projet, l'impact scientifique, industriel ou sociétal des résultats.

The 2 previous sections present the results of (i) the diversity of the fungal and bacterial rhizospheric diversity to select the 50 genotypes and (ii) the diversity of the fungal and bacterial endophytic communities obtained with the greenhouse experiments performed on the 50 genotypes with 2 soils and the 10 genotypes grown *in vitro*.

The abundances of N-cycling genes have been measured but results are not yet analyzed.

Effects of N fertilization on the bacterial and fungal endophytic communities of the 10 genotypes: the corresponding samples have been sent last month to be sequenced. Results will be analyzed before the summer.

Effects of drought on the bacterial and fungal endophytic communities of the 10 genotypes: these samples are currently processed. Results will be analyzed by the end of 2023.

Effects of biotic stress on the bacterial and fungal endophytic communities of the 10 genotypes: these samples won't be analyzed. Our partner in Austria, in charge on the greenhouse experiments with pathogens had to cope with important organizational problems due to the COVID situation and departure of one of their crucial team members. It won't be possible to compare the endophytic diversity with rhizospheric diversity so we commonly decide not to go on with these samples.

The final meeting of the PotatoMETAbiome project will be held online with members of the 7 European universities the 14th of March. This will allow us to share our last results and to discuss precisely our strategy of publications with our colleagues from the different universities.

Overall, we were able to perform more experiments than planned in the initial proposal thanks to a PhD grant we obtained from my university (department council from Pyrénées-Atlantiques and E2S project). We hired Miss Jyotsna Nepal for 3 years from February 2021. This allowed us to analyze the endophytes in each of the greenhouse experiments and not only in the N-fertilization assay. Besides, we were able to add a new experiment which is currently running in the greenhouse of the Groningen university (Figure 2, box 3). These extra-experiments will be funded by own-resources from Pau and Groningen universities. Since the results will be totally included in the potatoMETAbiome project, ANR support will be mentioned in every papers or presentations made from this last experiment.

B.10 CONCLUSIONS

Analysis of the endophytic diversity highlighted very different patterns between diversities of bacterial and fungal communities. The first was mainly determined but soil conditions, the second by both soil conditions and plant genotypes. Overall, this suggests that the soil, rather than the vertical transfer is the primary source of entry for the endophytes in potato.

B.11 REFERENCES

1. Pérez-Jaramillo et al. *Plant molecular biology*, 2016, 90(6), 635-644; 2 Hardoim et al. *PloS one* 2012, 7(2), e30438; 3 Shi et al *Frontiers in Microbiology*, 2021 12 ; 4 Brader et al *Current opinion in biotechnology*, 2014 27, 30-37; 5 Mantzoukas & Eliopoulos *Applied Sciences*, 2020 10(1), 360; 6 Zhang et al *Scientific reports*, 2019 9(1), 1-12 ; 7 Naik et al *Microbiological Research*, 2009 164(3), 290-296; 8 Hartmann et al *Plant and Soil*, 2009 321(1), 235-257

LISTE DES LIVRABLES

Quand le projet en comporte, reproduire ici le tableau des livrables fourni au début du projet. Mentionner l'ensemble des livrables, y compris les éventuels livrables abandonnés, et ceux non prévus dans la liste initiale.

Date de livraison	N°	T i t r e	Nature (rapport, logiciel, prototype, données, ...)	Partenaires (souligner le responsable)	Commentaires
	WP1 : Coordination et gestion de projet				
Mars19 Mars20 Juin21 Mars 23	1.1 Kick-off meeting 1.2 Réunion de Projet année 1 1.3 Réunion de Projet année 2 1.4 Réunion Finale de Projet année 3	Jalons		RUG, TUM, TUG, UL, UPPA, WULS, PAS, BRC, MPG, WULS	
06/19 09/20 09/21 09/22 09/23	1.1 Compte-rendu du Kick-off meeting 1.2 Plan de gestion du projet 1.3 Rapport de Projet année 1 1.4 Rapport de Projet année 2 1.5 Rapport Final de Projet	Rapports		RUG, TUM, TUG, UL, UPPA, WULS, PAS, BRC, MPG, WULS	
	WP2 : Sélection de variétés de pommes de terre pour améliorer la santé, la protection, la production et la résilience de la plante				
Août19 Remplacé e par J2.3 Fev 21 Mars22 ND Mars22 ND	2.1 Description des Traits d'Interactions Microbiennes (TIM) pour 200 génotypes 2.2 Analyses Microarray des 200 génotypes 2.3 Séquençage des génomes sélectionnés 2.4 Caractérisation du microbiome pour les essais en serre au champ 2.5 Analyses Transcriptomiques et métabolomiques 2.6 Données sur le rendement et l'état sanitaire des 10 génotypes 2.7 Identification des marqueurs ou des gènes associés avec les interactions microbiennes	Jalons		RUG, TUM, TUG, UL, UPPA, PAS, BRC, MPG, WULS	
Août19 Août19 Mars20 Juin20 Janv23 Janv23	2.1 Sélection in silico des génotypes de pommes de terre pour la caractérisation des Traits d'Interactions Microbiennes (TIM) 2.2 Caractérisation in vitro des TIM à partir de 200 génotypes de pommes de terre et sélection pour les expériences en serre 2.3 Analyses micro-array pour 200 génotypes 2.4 Caractérisation du Microbiome pour les 50 génotypes sélectionnés d'après l'expérience en serre 2.5 Caractérisation du Microbiome pour les 10 génotypes sélectionnés d'après l'expérience en serre 2.6 Analyses et intégration des données	Livrables		RUG, TUM, TUG, UL, UPPA, PAS, BRC, MPG, WULS	
	WP3 : Stratégies pour améliorer l'efficacité à utiliser les ressources via les interactions microbiennes				

Date de livraison	N°	T i t r e	Nature (rapport, logiciel, prototype, données, ...)	Partenaires (souligner le responsable)	Commentaires
Jun 20 Mars22	3.1 Caractérisation du microbiome pour les essais en serre essais au champ 3.2 Analyses transcriptomiques et métabolomiques	Jalons		RUG, TUM, TUG, <u>UL</u> , UPPA, PAS, BRC, MPG, WULS	
Aout20 Mars22 Mars23 ND	3.1 Caractérisation du Microbiome et des génotypes de plantes pour les 50 génotypes dans les sols irlandais 3.2 Mécanismes conduisant à une meilleure efficacité dans l'utilisation des ressources 3.3 Caractérisation du microbiome fonctionnel pour les 10 génotypes sélectionnés au champ 3.4 Changement du microbiome fonctionnel en réponse aux biostimulants	Livrables		RUG, TUM, TUG, <u>UL</u> , UPPA, PAS, BRC, MPG, WULS	
	WP4 : Stratégies pour améliorer la résilience des pommes de terre face aux stress biotiques et abiotiques				
Sept21 Fev22 Fev22 ND	4.1 Caractérisation du microbiome pour les essais en serre 4.2 Sélection des consortia et formulations bactériennes 4.3 Sélection des microorganismes ayant un effet bioprotecteur contre les stress abiotiques 4.4 analyses Métatranscriptomiques du microbiome face aux stress biotiques et abiotiques	Jalons		RUG, <u>TUM</u> , TUG, UL, UPPA, PAS, BRC, MPG, WULS	
Aout20 Aout20 ND ND ND	4.1 Caractérisation du Microbiome et des génotypes de plantes pour les 50 génotypes dans les sols allemands 4.2 Définition de 4 consortia bactériens et 2 formulations ayant une activité contre les pathogènes 4.3 Impact de l'inoculation sur le microbiome et la plante 4.4 Identification d'espèces ayant un rôle bioprotecteur contre les stress abiotiques grâce à la « reverse metagenomics » et l'isolement de souches 4.5 Mécanismes conduisant à une meilleure résistance face au stress	Livrables		RUG, <u>TUM</u> , TUG, UL, UPPA, PAS, BRC, MPG, WULS	
	WP5 : Evaluation des impacts socio-économiques et environnementaux des stratégies agronomiques développées				
Janv22 ND	5.1 Impacts socio-économiques des meilleures pratiques agricoles mises en avant par le projet 5.2 Impacts environnementaux des stratégies agronomiques développées dans le projet	Jalons		RUG, TUM, TUG, UL, UPPA, PAS, BRC, MPG, <u>WULS</u>	
Janv 22 ND	5.1: Rapport sur les effets économiques des interactions plantes/microorganismes 5.2 Rapport sur les impacts socio-économiques des meilleures pratiques agricoles mises en avant par le projet pour améliorer l'efficacité de l'usage des ressources et la résistance aux stress biotiques	Livrables		RUG, TUM, TUG, UL, UPPA, PAS, BRC, MPG, <u>WULS</u>	

Date de livraison	N°	Titre	Nature (rapport, logiciel, prototype, données, ...)	Partenaires (souligner le responsable)	Commentaires
ND	et abiotiques 5.3 Rapport sur les impacts environnementaux des stratégies agronomiques développées dans le projet				

RUG : University of Groningen

TUM : Technische Universität München

TUG : Graz University of Technology

UL : University of Limerick

UPPA: Université de Pau et des Pays de l'Adour

PAS : Polish Academy of Sciences

BRC : Bonin Research Institute

MPG : Max Planck Gessellschaft

WULS : Warsaw University of Life Sciences

ND : données non disponibles. En tant que coordinatrice uniquement de la partie française et pas de tout le consortium européen et sachant que le meeting se tient le 14 mars prochain, je n'ai pas accès à toutes ces informations.

C IMPACT DU PROJET

Ce rapport rassemble des éléments nécessaires au bilan du projet et plus globalement permettant d'apprécier l'impact du programme à différents niveaux.

Besoin de l'économie

La tendance inéluctable vers la suppression à court et moyen terme des phytosanitaires « historiques » comme le glyphosate ou les néonicotinoïdes impose le développement de nouvelles alternatives. Aujourd'hui l'ensemble de la filière s'accorde pour considérer l'exploitation du microbiote des plantes comme l'une des options d'avenir pour s'adapter aux nouvelles réglementations tout en maintenant les rendements.

Applications éventuelles et Impact sur le tissu économique ou institutionnel local

Le projet propose de comprendre les mécanismes en jeu dans les interactions positives entre 10 à 50 variétés de pommes de terre et leur microbiote. L'objectif final est d'identifier des marqueurs génétiques de ces interactions, qui pourront ensuite être utilisés pour améliorer de futures stratégies de sélection pour les pommes de terre mais également pour d'autres plantes cultivées. La stratégie développée pourrait être transposable à d'autres plantes, tel que le maïs ou le blé dont les variétés hybrides ont également des systèmes racinaires peu développés. Cela pourrait donc intéresser de nombreux semenciers dans l'objectif de créer de nouvelles variétés plus résistantes et moins dépendantes des intrants.

Par ailleurs, trouver des solutions permettant de limiter les intrants est particulièrement important dans nos pays soumis aux pollutions des eaux par les pesticides.

C.1 INDICATEURS D'IMPACT

Nombre de publications et de communications (à détailler en C.2)

Comptabiliser séparément les actions monopartenaire, impliquant un seul partenaire, et les actions multipartenaires résultant d'un travail en commun.

Attention : éviter une inflation artificielle des publications, mentionner uniquement celles qui résultent directement du projet (postérieures à son démarrage, et qui citent le soutien de l'ANR et la référence du projet).

		Publications multipartenaires	Publications monopartenaire
International	Revue à comité de lecture	2 to be submitted before Mid 2023, 1 to be submitted by the end of the year and another in 2024	
	Ouvrages ou chapitres d'ouvrage		
	Communications (conférence)	1	
France	Revue à comité de lecture		
	Ouvrages ou chapitres d'ouvrage		
	Communications (conférence)		
Actions de diffusion	Articles vulgarisation		
	Conférences vulgarisation		
	Autres		

Autres valorisations scientifiques (à détailler en C.3)

Ce tableau dénombre et liste les brevets nationaux et internationaux, licences, et autres éléments de propriété intellectuelle consécutifs au projet, du savoir faire, des retombées diverses en précisant les partenariats éventuels. Voir en particulier celles annoncées dans l'annexe technique).

	Nombre, années et commentaires (valorisations avérées ou probables)
Brevets internationaux obtenus	
Brevet international en cours d'obtention	
Brevets nationaux obtenus	
Brevet nationaux en cours d'obtention	
Licences d'exploitation (obtention / cession)	
Créations d'entreprises ou essaimage	
Nouveaux projets collaboratifs	
Colloques scientifiques	
Autres (préciser)	

C.2 LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Répertorier les publications résultant des travaux effectués dans le cadre du projet. On suivra les catégories du premier tableau de la section **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** en suivant les normes éditoriales habituelles. En ce qui concerne les conférences, on spécifiera les conférences invitées.

ISME18, 18th International Symposium on Microbial Ecology, in August 2022 in Lausanne, Switzerland.

The title of the poster was “Impact of soil and potato genotypes on the diversity of microbial endophytic communities

Jyotsna Nepal, Rémy Guyoneaud, Fanny Guedea, Joana Falcao Salles, Xiu Jia, Tianci Zhao, Krzysztof Treder, Dorota Michałowska, Viviane Radl, Benoit Renaud Martins, Eléonore Attard

Publication 1: Achieve sustainable agriculture through breeding via considering plant-microbe interactions

Tianci Zhao, Jyotsna Nepal, Xiu Jia, Theo Elzenga, Eléonore Attard, Rémy Guyoneaud Joana Falcao Salles

To be submitted to Frontiers in Microbiology in June 23

Publication 2: Impact of soil and potato genotypes on the diversity of microbial endophytic communities

Jyotsna Nepal, Rémy Guyoneaud, Fanny Guedea, Joana Falcao Salles, Xiu Jia, Tianci Zhao, Krzysztof Treder, Dorota Michałowska, Viviane Radl, Benoit Renaud Martins, Eléonore Attard

To be submitted to Soil Biology and Biochemistry in July 23

C.3 LISTE DES ELEMENTS DE VALORISATION

*La liste des éléments de valorisation inventorie les retombées (autres que les publications) décomptées dans le deuxième tableau de la section **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** On détaillera notamment :*

- *brevets nationaux et internationaux, licences, et autres éléments de propriété intellectuelle consécutifs au projet.*
- *logiciels et tout autre prototype*
- *actions de normalisation*
- *lancement de produit ou service, nouveau projet, contrat,...*
- *le développement d'un nouveau partenariat,*
- *la création d'une plate-forme à la disposition d'une communauté*
- *création d'entreprise, essaimage, levées de fonds*
- *autres (ouverture internationale,...)*

Elle en précise les partenariats éventuels. Dans le cas où des livrables ont été spécifiés dans l'annexe technique, on présentera ici un bilan de leur fourniture.

C.4 BILAN ET SUIVI DES PERSONNELS RECRUTES EN CDD (HORS STAGIAIRES)

Ce tableau dresse le bilan du projet en termes de recrutement de personnels non permanents sur CDD ou assimilé. Renseigner une ligne par personne embauchée sur le projet quand l'embauche a été financée partiellement ou en totalité par l'aide de l'ANR et quand la contribution au projet a été d'une durée au moins égale à 3 mois, tous contrats confondus, l'aide de l'ANR pouvant ne représenter qu'une partie de la rémunération de la personne sur la durée de sa participation au projet.

Les stagiaires bénéficiant d'une convention de stage avec un établissement d'enseignement ne doivent pas être mentionnés.

Les données recueillies pourront faire l'objet d'une demande de mise à jour par l'ANR jusqu'à 5 ans après la fin du projet.

Identification				Avant le recrutement sur le projet			Recrutement sur le projet				Après le projet				
Nom et prénom	Sexe H/F	Adresse email (1)	Date des dernières nouvelles	Dernier diplôme obtenu au moment du recrutement	Lieu d'études (France, UE, hors UE)	Expérience prof. Antérieure, y compris post-docs (ans)	Partenaire ayant embauché la personne	Poste dans le projet (2)	Durée missions (mois) (3)	Date de fin de mission sur le projet	Devenir professionnel (4)	Type d'employeur (5)	Type d'emploi (6)	Lien au projet ANR (7)	Valorisation expérience (8)
GUEDEA Fanny	F	Fanny.guedeadea@gmail.com	27 fev 23	L Pro	France	1 an CDD privé	UMR 5254 CNRS	Technicienne	12 mois	Fev 22	CDD	Enseignement et recherche publique	Assistante ingénieur	Oui, même UMR sur un autre projet	Oui
NEPAL Jyotsna	F	Jyotsna.nepal@univ-pau.fr	27 fev 23	Master	Nepal, Pays Bas	x	UMR 5254 UPPA	PhD	36 mois	Fev 24	x	x	x	x	x

Aide pour le remplissage

(1) **Adresse email** : indiquer une adresse email la plus pérenne possible

(2) **Poste dans le projet** : post-doc, doctorant, ingénieur ou niveau ingénieur, technicien, vacataire, autre (préciser)

(3) **Durée missions** : indiquer en mois la durée totale des missions (y compris celles non financées par l'ANR) effectuées sur le projet

(4) **Devenir professionnel** : CDI, CDD, chef d'entreprise, encore sur le projet, post-doc France, post-doc étranger, étudiant, recherche d'emploi, sans nouvelles

(5) **Type d'employeur** : enseignement et recherche publique, EPIC de recherche, grande entreprise, PME/TPE, création d'entreprise, autre public, autre privé, libéral, autre (préciser)

(6) **Type d'emploi** : ingénieur, chercheur, enseignant-chercheur, cadre, technicien, autre (préciser)

(7) **Lien au projet ANR** : préciser si l'employeur est ou non un partenaire du projet

(8) **Valorisation expérience** : préciser si le poste occupé valorise l'expérience acquise pendant le projet.

Les informations personnelles recueillies feront l'objet d'un traitement de données informatisées pour les seuls besoins de l'étude anonymisée sur le devenir professionnel des personnes recrutées sur les projets ANR. Elles ne feront l'objet d'aucune cession et seront conservées par l'ANR pendant une durée maximale de 5 ans après la fin du projet concerné. Conformément à la loi n° 78-17 du 6 janvier 1978 modifiée, relative à l'Informatique, aux Fichiers et aux Libertés, les personnes concernées disposent d'un droit d'accès, de rectification et de suppression des données personnelles les concernant. Les personnes concernées seront informées directement de ce droit lorsque leurs coordonnées sont renseignées. Elles peuvent exercer ce droit en s'adressant l'ANR (<http://www.agence-nationale-recherche.fr/Contact>).