

DISS. ETH NO. 24101

**POPULATION GENOMICS OF ADAPTATION IN THE  
FUNGAL WHEAT PATHOGEN *ZYMOSEPTORIA TRITICI***

A thesis submitted to attain the degree of  
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH  
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

**FANNY ELISABETH HARTMANN**

Ingénieur Agronome, Institut Supérieur des Sciences  
Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage,  
Agrocampus Ouest, centre de Rennes, France,  
Born on 05.05.1989  
Citizen of France

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Bruce McDonald

Prof. Dr. Daniel Croll,

Dr. Pascal Frey

2017

## SUMMARY

Fungal plant pathogens cause major damage in agricultural ecosystems. Fungal pathogens rapidly evolved virulence on resistant crops and resistance to fungicides. However, the loci and the mechanisms of genome evolution underlying the processes of adaptation are poorly understood. The aim of this PhD thesis was to study the genetic basis of adaptation in populations of *Zymoseptoria tritici* (syn. *Mycosphaerella graminicola*), which is the most damaging fungal wheat pathogen in Europe. We sequenced whole genomes of a global collection of 130 isolates sampled in four different geographic locations: Australia, Israel, Switzerland and Oregon, US. The collection of 130 isolates was highly polymorphic ( $\approx 1,000,000$  SNPs) and genotypes clustered according to their geographic origin. First, we performed genome-wide association studies (GWAS) to investigate the genetic basis of fungal virulence on two Swiss wheat varieties, Greina and Toronit. GWAS revealed a complex and host-specific genetic basis for virulence. The strongest GWAS association on Toronit was in complete linkage disequilibrium with the deletion polymorphism of a gene encoding a highly expressed, small secreted protein (SSP). The isolates having the deletion allele were more virulent on Toronit than the isolates having the presence allele. The direct proximity of transposable element clusters likely generated extensive chromosomal rearrangements and independent losses of the gene. Then, we analysed the population genomics of gene deletion events across the genome. Gene deletions affected 15% of all genes, including entire secondary metabolite gene clusters and genes encoding SSPs. Although, we found evidence of purifying selection acting against gene deletions, we also identified gene deletion polymorphisms that may be governed by local

adaptation. Finally, we performed genome scans to identify signatures of recent positive selection in *Z. tritici* populations. In the largest sampled population (Oregon, US), we identified 15 selective sweeps. Regions under recent selection contained genes encoding proteins with known roles, including SSPs, cell wall degrading enzymes and transmembrane transporters, that are likely contributing to interactions with the host and responses to environmental stress. We found high heterogeneity in selective sweeps among populations, suggesting the action of divergent selection leading to locally adapted pathogens. Using a combination of GWAS and genome scans, we identified several candidate genes playing a role in host and environmental adaptation in populations of the fungal wheat pathogen *Z. tritici*. Our findings highlighted the extensive standing genetic variation including chromosomal rearrangements, gene deletions and nucleotide polymorphisms segregating in pathogen populations. Such variation provides an important raw material for rapid evolutionary responses. This PhD thesis demonstrated that the use of multiple population genomics approaches can substantially advance our understanding of adaptive evolution in fungal plant pathogen populations, that is essential to control fungal diseases.

## RÉSUMÉ

Les champignons pathogènes des plantes cultivées sont responsables d'importantes pertes économiques dans le monde. Ces organismes sont capables de contourner rapidement les gènes de résistance variétale en mettant en place des mécanismes d'adaptation. Les mécanismes impliqués dans l'évolution des génomes fongiques sont encore peu connus. L'objectif principal de cette thèse a consisté à étudier les déterminants génétiques et évolutifs des traits adaptatifs chez le champignon pathogène du blé *Zymoseptoria tritici* (syn. *Mycosphaerella graminicola*). Ce champignon à fort potentiel évolutif est responsable de la septoriose sur blé, problématique majeure en Europe. Nous avons re-sequencé les génomes de 130 isolats de ce champignon, collectés dans différentes régions du monde (Australie, Suisse, Israël and Oregon, USA). Le premier volet de la thèse a consisté à étudier le déterminisme génétique de la virulence sur deux variétés de blé suisse, Greina et Toronit, par une approche de génétique d'association. L'architecture génétique de la virulence était complexe et spécifique à chaque variété. La plus forte association phénotype-génotype a été décrite entre la virulence des isolats sur la variété Toronit et la délétion du gène 8\_609 codant pour une petite protéine sécrétée. Les isolats ayant le gène 8\_609 délété étaient plus virulents que les isolats ayant le gène présent. La présence d'un cluster d'éléments transposables à proximité du gène 8\_609 a été probablement un élément clé dans la génération de réarrangements chromosomiques dans cette région du génome. Dans un deuxième temps, nous avons caractérisé l'importance des délétions de gènes à l'échelle du génome et entre populations. Les délétions affectaient 15% des gènes, notamment les gènes codant pour des petites protéines sécrétées et des protéines produisant des métabolites secondaires, qui jouent souvent un rôle dans la virulence des

champignons. Dans les populations de *Z. tritici*, les délétions de gènes étaient sous sélection négative. Cependant, nous avons également identifié des fortes différences de fréquences de délétions entre populations pour certains gènes, suggérant une sélection positive liée à l'adaptation locale des populations. Enfin, dans un troisième temps, nous avons scanné les génomes pour analyser les signatures de sélection dans les populations. Dans la plus grande population, collectée en Oregon, nous avons détecté 15 régions du génome sous balayage sélectif. Ces régions sous sélection récente contenaient plusieurs gènes codant pour des petites protéines sécrétées, des enzymes dégradant les parois cellulaires végétales et des transporteurs transmembranaires. Il est probable que ces gènes contribuent aux interactions du champignon avec la plante hôte et les réponses aux stress environnementaux. Les régions du génome sous balayage sélectif étaient très hétérogènes entre populations, suggérant l'action de pressions de sélection divergentes conduisant à l'adaptation locale des populations de champignons. Dans cette thèse, nous avons identifié des gènes candidats ayant un rôle probable pour l'adaptation à l'hôte et l'environnement dans les populations du champignon pathogène du blé *Zymoseptoria tritici*. Les résultats obtenus suggèrent l'importance des réarrangements chromosomiques, des pertes de gènes et des polymorphismes nucléotidiques dans les processus d'adaptation des populations fongiques. La combinaison de plusieurs approches de génomique des populations a un fort potentiel pour améliorer notre compréhension des mécanismes génétiques et évolutifs contrôlant les traits adaptatifs chez les populations de champignons des plantes cultivées. Une meilleure connaissance de ces mécanismes est essentielle pour la protection des cultures.