

Soutien spécifique à la Génétique Végétale (SRESRI 2015)

Le soutien spécifique accordé, en 2015 et 2016, à la génétique végétale du site clermontois par la Région Auvergne dans le cadre de son SRESRI, soutien validé par la Région Auvergne – Rhône-Alpes, avait un double objectif : (1) renforcer la position de leader au niveau international des recherches sur les céréales acquise ces dernières années par l'UMR GDEC, et (2) contribuer à la structuration des forces présentes sur le site clermontois autour de la génétique végétale. Les projets financés *via* les dotations 2015 et 2016 s'inscrivent dans le cadre général de l'amélioration du rendement et de la qualité du blé tendre, dans un contexte de développement d'une agriculture plus durable (transition agro-écologique) et de changement climatique.

Le soutien accordé en 2015 a permis de financer 3 allocations de recherche (2 Thèses et 1 stage post-doctoral) et la construction d'un laboratoire d'ADN ancien. Ces différents projets s'inscrivent dans le cadre général de l'étude de l'organisation, expression, recombinaison et évolution des génomes complexes, avec comme modèle celui du blé.

Thèse 1 : Déterminisme moléculaire de l'ajustement des ressources hydriques et carbonées de la plante saine ou malade - Analyse de la diversité épigénomique chez le blé tendre

Doctorante : Caroline Juery (2017 - 2020), Directeur de Thèse E. Paux (DR-INRA, UMR GDEC)

Projet :

Dans le cadre du projet Epi3B « Cartographie épigénomique du chromosome 3B de blé tendre » financé par la Région Auvergne et l'INRA, une première analyse de cinq marques épigénétiques a été conduite sur le chromosome 3B. En combinant des approches d'immunoprécipitation de la chromatine, de capture de séquence, et de séquençage haut débit, il nous a été possible de cartographier ces marques le long du 3B et d'étudier l'état chromatinien des quelques 7 200 gènes portés par ce chromosome. Cette étude a notamment permis de mettre en lumière l'intérêt de la marque H3K27me3. Chez les plantes, cette marque répressive de l'expression des gènes est connue pour jouer un rôle crucial dans la régulation de la transcription au cours du développement (Zheng and Chen, 2011). Chez le blé, cette marque épigénétique est majoritairement présente dans les régions distales du chromosome qui correspondent aux régions à évolution rapide, où s'accumulent les gènes issus de réarrangements récents (gènes non-synténiques), impliqués dans des fonctions vraisemblablement liées à l'adaptation de l'espèce. L'analyse fine de la localisation de cette marque épigénétique montre également une association avec les gènes exprimés de façon non constitutive. Ces résultats suggèrent donc un lien entre cette marque et l'existence de régions chromosomiques impliquées dans l'évolution et l'adaptation du blé tendre. Cependant ces travaux ont été menés sur un seul chromosome (le 3B) d'une seule variété (Chinese Spring, la variété de référence pour le séquençage). Le projet de Thèse vise à aller plus avant dans la compréhension de la distribution de la marque H3K27me3 et de son rôle dans le fonctionnement du génome du blé tendre, en conduisant une analyse pangénomique de cette marque dans différents géotypes de blé. Ce projet s'articule autour de 3 grandes tâches : (1) la caractérisation de la diversité épigénomique chez le blé tendre, (2) l'étude de l'héritabilité transgénérationnelle la transmission de la marque H3K27me3 et (3) l'analyse

comparative des patrons de H3K27me3 entre régions orthologues chez les céréales et entre régions homéologues chez le blé tendre.

Etat d'avancement :

Après la publication en tant que co-auteur d'un article dans la revue Science (Ramirez-Gonzalez et al., Science 2018 ; <https://science.sciencemag.org/content/361/6403/eaar6089>), Caroline Juery a finalisé l'analyse de ses données et publié un article en tant que premier auteur dans la revue Plant Genome (Juery et al., Plant Genome 2020 ; <https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/tpg2.20069>). Elle a ensuite rédigé son manuscrit et soutenu sa Thèse le 24 novembre 2020 devant un jury constitué de Karine Alix (Professeur AgroParisTech), Marie-Angèle Grandbastien (DR INRAE), Malika Ainouche (Professeur Université de Rennes), Christophe Tatout (Professeur UCA), Etienne Paux (DR INRAE) et Frédéric CHoulet (IR INRAE).

Thèse 2

Identification et caractérisation de mutants pour des gènes contrôlant la recombinaison méiotique chez le blé tendre (ICarRe)

Doctorante Fatiha Benyahya, Directeur de Thèse P. Sourdille (DR-INRAE, UMR GDEC)

Projet :

Les nombreuses études réalisées chez les eucaryotes montrent que les mécanismes de recombinaison méiotique sont très conservés. Six gènes clés de la recombinaison méiotique, dont l'implication dans le contrôle de la fréquence de recombinaison méiotique a été démontrée dans d'autres organismes modèles, ont potentiellement une capacité à améliorer la recombinaison. Par exemple, il a récemment été montré que la protéine hélicase FANCM était un régulateur majeur des crossing over (CO) chez la levure *Schizosaccharomyces pombe* et chez *A. thaliana*, où la mutation du gène augmente la recombinaison d'un facteur trois. Ce résultat suggère que ce gène serait un bon candidat pour l'amélioration de la recombinaison chez le blé. De la même façon, les autres gènes listés améliorent à des taux divers la recombinaison méiotique et nous proposons de les étudier de façon approfondie. Le projet de Thèse, conduit dans le cadre d'une collaboration entre l'UMR GDEC et l'UMR GReD est structuré en trois étapes : (1) étude du comportement méiotique des mutants des gènes ; (2) analyse comparée de l'expression des différentes copies dans les lignées sauvage et mutantes ; (3) recherche de variabilité naturelle exploitable en sélection.

Etat d'avancement :

- Rédaction d'un article qui a été accepté dans la revue *The Plant Journal* (Benyahya et al, *The Plant J.* 2020), dans lequel Fatiha montre que seules deux copies de SPO11-2 sur les trois sont fonctionnelles, la copie A étant en cours de pseudogénéisation. Elle a complété ses analyses par l'étude du comportement méiotique des ancêtres diploïdes et tétraploïdes du blé. Elle a montré que le nombre de cassures double brin est parfaitement additif entre les espèces diploïdes par rapport aux espèces polyploïdes ce qui suggère que ce nombre est fonction du nombre et de la taille des chromosomes. Elle a soutenu sa Thèse le 1^{er} octobre 2021, devant un jury composé de Bernard de Massy (DR CNRS, IGH Montpellier), rapporteur, Mathilde Grelon (DR INRAE, IJPB Versailles), rapporteur, Arnaud de Muyt (DR INSERM, Institut Curie Paris), examinateur, Anne-Marie Chèvre (DR INRAE, IGEPP Rennes), examinatrice, Maria Gallego (Professeur UCA, UMR GReD Clermont), examinatrice, présidente du jury et Pierre Sourdille (DR INRAE, UMR GDEC Clermont), directeur de thèse.

Benyahya F, Nadaud I, Da Ines O, Rimbert H, White C, Sourdille P (2020) SPO11.2 is essential for programmed double strand break formation during meiosis in bread wheat (Triticum aestivum L.). The Plant J. (doi 10.1111/tpj.14903)

Projet PaléOvergne

Responsable scientifique du projet : J. Salse (DR-INRAE, UMR GDEC)

Le projet 'PaléOvergne' a pour objectif le développement en Auvergne d'un site d'excellence pour le développement de projets de paléobotanique et de paléogénomique. Il se compose d'un stage Post-Doctoral (24 mois) et d'un projet de construction d'un laboratoire dédié à l'ADN ancien.

Projet post-doctoral

David Arnisem : 1/02/2019 – Mamadou Dia Sow : 1/01/2020 au 31/03/2021

Ce projet a eu pour objectif d'étudier l'évolution des plantes modernes à partir de l'analyse de génomes ancestraux, à l'échelle des *Triticeae* (blé), des céréales et plus largement des plantes à fleurs. Ces travaux de recherche s'appuient à la fois sur des données de génomes séquencés (ADN moderne et ADN ancien) disponibles dans des bases de données publiques ou produites au sein de l'équipe d'accueil, ainsi que sur la reconstruction de génomes ancestraux. L'étude de l'évolution de 8 génomes de céréales (riz, blés, maïs, sorgho, *Brachypodium*, orge et setaria) a permis de reconstruire l'évolution de l'organisation (perte et ou duplication de gènes) et de la régulation (expression et méthylation au cours du développement du grain) de ces génomes depuis leur ancêtre commun datant de près de 100 millions d'année. Ce travail permet de mettre en évidence le rôle moteur de la polyploïdie (doublement du génome) comme source de plasticité dans la séquence, l'expression et la méthylation des gènes issus du doublement génomique impactant préférentiellement des gènes impliqués dans des réponses adaptative des plantes à leur environnement. Ces travaux apportent un éclairage nouveau sur l'évolution (et potentiellement l'adaptation) des génomes de plantes à la suite d'événements de polyploïdisation au cours de l'évolution.

Laboratoire d'analyse de l'ADN ancien extraits de restes archéobotaniques

Afin d'identifier les solutions méthodologiques et technologiques les plus actuelles pour la mise en place d'un laboratoire d'analyse d'ADN ancien (ci-après aDNA), Caroline Pont, Ingénieur d'Etude INRAE en charge de la gestion de ce laboratoire, a effectué sur la période 2017-2019 plusieurs séjours au sein de laboratoires d'analyse d'ADN ancien, notamment à l'institut Jacques Monod à Paris et à l'Université de Santa Cruz en Californie dans le laboratoire pionnier de l'étude de l'ADN de Néandertal. Ces collaborations ont permis de lever les verrous techniques et les attendus scientifiques permettant de finaliser et de réorienter le choix des équipements et spécificités techniques (en constante évolution) nécessaires pour débiter l'aménagement du laboratoire en 2020. L'année 2020, année de la fusion entre l'INRA et l'IRSTEA, a permis de dégager une opportunité d'optimisation de locaux INRAE localisés sur le Campus universitaire des Cézeaux par la libération d'une salle blanche, qui constitue l'aménagement central de ce projet. Le développement de ce laboratoire d'ADN ancien n'a réellement commencé que fin 2020, les contraintes sanitaires, notamment celles de la première partie de 2020, n'ayant pas permis d'avancer comme souhaité sur ce projet qui nécessite des visites fréquentes du site par les prestataires potentiels. L'aménagement complet du laboratoire d'ADN ancien et de ses annexes est en cours sur cette salle blanche préexistante dont le plan ci-dessous illustre l'organisation validée, qui permet d'assurer l'élimination de toute forme de contamination : système de surpression de l'air avec un SAS d'entrée, sol-mur-plafond décontaminables (revêtement murs lisses, huisseries sans rebords), cloisons ½ vitrées, protection-décontamination UV (lumières UV plafond), accès sécurisé, rangements et paillasse décontaminables. De plus, l'organisation des locaux disponibles sur ce site INRAE permet le regroupement du labo aDNA avec ses annexes et une proximité nécessaire à un travail de qualité (laboratoire de biologie moléculaire, de bio-informatique, d'identification des échantillons archéologiques et une chambre de stockage du matériel archéologiques).