

Synthèse de la séance de l'Académie d'Agriculture de France du 18 octobre 2017, portant sur la  
« **Maîtrise de la recombinaison méiotique en création variétale** »

par Pierre **DEVAUX** et Georges **PELLETIER**

En introduction, **Pierre Devaux** rappelle les principes de l'innovation variétale qui vise à combiner des allèles favorables chez un même individu qui, reproduit en masse, souvent par la semence, deviendra variété pour satisfaire la demande des agriculteurs et les besoins des marchés.

Ces combinaisons qui reposent sur les échanges d'ADN au cours de la méiose, sont limitées par des contraintes qui semblent inhérentes aux processus mêmes de la recombinaison méiotique. Il arrive souvent par exemple qu'on ne puisse pas transférer un caractère d'intérêt comme la résistance à un stress depuis une ressource génétique sauvage sans simultanément introduire des caractères indésirables pour la culture ou la qualité des produits récoltés.

Récemment, des progrès importants ont été accomplis dans la connaissance des mécanismes de la recombinaison méiotique en particulier chez la plante modèle *Arabidopsis* mais aussi de plus en plus chez les plantes cultivées. De nombreux gènes impliqués dans le contrôle de la recombinaison ont été identifiés et analysés. Il était donc opportun de faire un état des lieux des avancées récentes dans la connaissance des facteurs influençant la recombinaison méiotique, dont dépend l'efficacité des méthodes de la sélection faisant appel aux hybridations.

A cette fin trois orateurs se sont succédés: **Denise Zickler**, Directeur de recherche émérite au CNRS, a présenté les mécanismes généraux de la recombinaison méiotique ; **Raphaël Mercier**, Directeur de recherche à l'Institut Jean-Pierre Bourgin de l'INRA à Versailles, a exposé comment l'identification de certains gènes permet d'augmenter significativement le nombre de CO ou de les supprimer ; **Luke Ramsay**, généticien de l'orge au James Hutton Institute en Ecosse, a témoigné de l'influence des facteurs du milieu sur la recombinaison méiotique.

**Denise Zickler** a rappelé dans le premier exposé que la recombinaison méiotique est nécessaire à l'appariement des chromosomes homologues (paternels et maternels) et procure un lien physique (chiasma) entre eux qui est indispensable pour leur ségrégation correcte lors de la division réductionnelle, étape clé de la formation des gamètes haploïdes. De multiples cassures double brin d'ADN (CDB) "programmées" et strictement régulées initient la recombinaison. Elles sont majoritairement réparées en choisissant le chromosome homologue comme matrice (et non la chromatide sœur comme en mitose) de deux façons : par échange génétique réciproque ou « crossing-over » (CO) ou majoritairement sans échange réciproque ou non-*crossing over* (NCO). Quelle que soit la taille du chromosome on observe au moins un CO (chiasma) par paire d'homologues.

Les CDB mettent en jeu la protéine Spo11, très conservée au cours de l'évolution. Elles se situent dans des régions pauvres en nucléosomes, sans spécificité de séquence et rarement au niveau des centromères ou des télomères. Leur formation dépend également de la structure et des modifications post-traductionnelles de la chromatine. Une fois la cassure effectuée, Spo11 est dissociée de l'ADN par une activité endonucléase et les extrémités 5' de la cassure sont digérées, exposant deux extrémités 3' d'ADN simple brin. Ces extrémités 3' simple brins vont être utilisées comme « sonde » dans la recherche du chromosome homologue. Si le segment 3' simple brin se

dissocie de l'homologue et « retourne » dans sa chromatide de départ la réparation produira un NCO où, après synthèse de l'ADN « manquant », les deux extrémités cassées sont réassociées. Quand les extrémités 3' simple brin sont maintenues dans l'homologue, protégées par plusieurs protéines, des étapes de synthèse d'ADN, de réassociation puis de clivage vont générer un CO.

L'appariement des homologues et la formation d'une structure tripartite appelée complexe synaptonemal (CS) qui le maintien se font en étroite liaison avec les étapes de la recombinaison. Les sites d'initiation des CO correspondent aux sites d'initiation du CS, le CS n'est dissocié des homologues que quand les CO sont formés. Plusieurs protéines de recombinaison sont nécessaires à la formation du CS et certaines protéines du CS sont requises pour la formation des CO.

Le deuxième exposé par **Raphaël Mercier**, a porté sur la modification génétique de la fréquence des CO dans une double perspective fondamentale et appliquée. En effet le nombre et la distribution des CO le long des chromosomes sont soumis à de fortes contraintes. Le nombre de CO est généralement faible, typiquement un à trois par chromosome, quelle que soit la taille physique des chromosomes. Par exemple, un chromosome de champignon de Paris est moyenne le siège de deux CO par méiose, autant qu'un chromosome d'orge pourtant 1000 fois plus grand. Cette limitation qui affecte la puissance de la sélection est intrigante car les capacités de la machinerie méiotique sont bien supérieures. De plus, la répartition des CO le long du chromosome est extrêmement hétérogène, les régions entourant les centromères laissant de large portions à l'écart de la sélection de recombinants. On distingue deux types de CO, ceux de la classe I, soumis au phénomène d'interférence qui exclut deux CO à proximité relative l'un de l'autre et ceux de classe II, minoritaires qui ne montrent pas cette restriction.

Lors des dernières années, l'équipe de R. Mercier a identifié chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* des gènes dont la fonction est de limiter la recombinaison méiotique, définissant trois voies biochimiques qui agissent de concert. Ces trois voies reposent respectivement sur les hélicases FANCM et RECQ4 et sur l'ATP-ase FIGL1, qui sont très conservées chez les eucaryotes, y compris les mammifères. En combinant l'extinction de ces voies, la fréquence de CO de classe II, a pu être augmentée de façon très importante, en moyenne d'un facteur huit. Cependant, la recombinaison à proximité des centromères n'est pas augmentée, suggérant que des mécanismes différents sont à l'œuvre pour prévenir la recombinaison dans ces régions.

La combinaison de trois autres mutations permet au contraire de supprimer la recombinaison et la division réductionnelle de la méiose, aboutissant à des gamètes diploïdes de constitution génétique identique à la plante mère. Par pollinisation avec un génotype transgénique qui après fécondation élimine ses propres chromosomes, la descendance est constituée des plantes identiques à la mère. On est donc très proche d'une reproduction par apomixie.

La recombinaison méiotique est donc potentiellement modulable et une approche différente consiste à rechercher des conditions extérieures de culture des plantes qui la modifient. **Luke Ramsay** a rappelé l'importance d'augmenter la fréquence de CO chez les céréales comme l'orge ou le blé qui possèdent de très grands chromosomes où un tiers des gènes sont situés dans des zones où la fréquence des CO est très faible. Ces régions sont donc inaccessibles pour les programmes de sélection. Il a montré que des températures élevées de l'ordre de 30°C ont une action sur la méiose mâle observée en cytologie, en allongeant le complexe synaptonémal des méiocytes, en repositionnant des protéines associées au CO de classe I dans de nouvelles régions. Cependant l'effet global sur le taux de recombinaison n'est que modérément augmenté. D'autres expériences en modifiant l'apport de phosphore produit des effets similaires. Il est clair que sur le plan opérationnel, qu'il s'agisse de recherche ou d'application, pouvoir agir de l'extérieur pour moduler la recombinaison revêt une

grande importance mais il reste beaucoup à faire pour passer de l'empirisme que comporte cette approche à la connaissance des mécanismes moléculaires sur lesquels peuvent jouer les conditions environnementales.

En conclusion **Georges Pelletier** a souligné l'excellence scientifique des recherches qui ont été présentées et réalisées dans notre pays. Il a également rappelé l'importance des applications potentielles pour la création variétale et la production de semences. Il a regretté la frilosité des décideurs publics et privés en comparaison du dynamisme d'autres pays concurrents, sur ce sujet particulier et plus généralement ceux qui dérivent des progrès récents de la biologie moléculaire végétale.