

SOCRATES: reSilience tO reCuRrent heAt sTrEsSes

Résumé

La fréquence accrue d'événements climatiques extrêmes, tels que les vagues de chaleur, défie les systèmes de culture actuels dans un contexte de changements globaux accélérés. Cependant, les effets de leur récurrence sont encore peu caractérisés et leur interprétation ne prend pas souvent en compte la possibilité d'un effet mémoire du stress modifiant la réponse des plantes aux stress ultérieurs. Cet effet mémoire peut être bénéfique grâce à un effet priming ou négatif par un effet amplificateur des stress cumulés, ce qui sous-entend l'existence de signatures métaboliques particulières qui expliquent ces différentes catégories d'effets mémoire. Par ailleurs, les interprétations issues de travaux de caractérisation de cet effet mémoire chez les plantes cultivées se heurtent à la difficulté d'analyser l'effet mémoire indépendamment des effets du stade phénologique et des effets de compensation qui sont particulièrement développés chez des espèces très plastiques à croissance indéterminée comme le colza.

Dans ce contexte, le projet de thèse **SOCRATES** vise à analyser les effets mémoire du stress en conditions contrôlées, sous différentes séquences de stress permettant de s'affranchir de ces difficultés i.e. en imposant un cumul de temps thermique identique lors du pré-stress (avant l'occurrence du stress intense). Les analyses porteront sur le rendement et la qualité grainière, ainsi que sur les profils métaboliques afin d'identifier des signatures métaboliques particulières et indicatrices d'une mémoire positive, négative voire d'une absence de mémoire. En cours de culture, des mesures par spectroscopie proche infra-rouge (NIRS) seront réalisées pour confronter les modifications de spectre de réflectance aux signatures métaboliques. Ce dernier objectif vise à développer un outil de détection du statut métabolique de plantes soumises à des stress thermiques répétés. Enfin des essais au champ seront conduits pour valider les corrélations observées entre modifications des spectres de réflectance et signatures métaboliques, observées en conditions contrôlées. L'ensemble des travaux cherche à (i) décrypter les effets mémoire engendrés par des stress répétés en s'affranchissant des effets indirects dus à des décalages de phase dans les protocoles thermo-sensibilisants, (ii) identifier des signatures métaboliques particulières pour définir les voies et les composés métaboliques impliqués dans la mémoire du stress et qui soient potentiellement utilisables en sélection variétale et (iii) développer des outils de diagnostic *in situ* pour modifier des itinéraires techniques de façon à anticiper des effets délétères sur le rendement et la qualité des cultures.

Questions de recherche proposées au.à la doctorant.e

Les questions de recherche sont rattachées à 3 axes de travail :

Axe 1: Comparaison de différents schémas de thermo-sensibilisation en conditions contrôlées (différentes modalités de pré-stress en amont du stress intense). Il s'agira de déterminer si les caractéristiques des schémas de sensibilisation, en termes de fréquence du stress modéré et donc de durée de la phase de récupération, impacte l'efficacité de la thermo-sensibilisation sur les critères de performances (composantes de rendement, qualité grainière) ?

Axe 2 : Identification de signatures métaboliques de la mémoire du stress et de marques épigénétiques impliquées dans leur régulation. On cherchera à identifier des signatures métaboliques particulières dans les feuilles et les graines pendant la période de stress. Acquisées en cinétique, ces modifications du métabolome seront associées à un effet mémoire positif (effet priming du pré-stress), négatif (effets cumulés du pré -stress et du stress intense) voire une absence de mémoire. Plus précisément, il s'agira de détecter les modifications majeures de métabolites suite aux événements constituant le schéma de stress (post pré-stress et post stress intense). Des analyses protéomiques ciblées chercheront à identifier d'éventuelles modifications d'histones impliquées dans la mémoire du

stress et par conséquent, dans les différences de signatures métaboliques entre modalités thermiques attendues. Seront également prévues en partenariat avec l'UMR AGAP (Montpellier) des analyses transcriptomiques pour faire le lien avec les données protéomiques et métabolomiques.

Axe 3 : Analyses des corrélations entre modifications des profils de réflectance et signatures métaboliques pour prédire le potentiel d'acclimatation des plantes au stress récurrents. On cherchera à associer des profils de réflectance acquis par NIRS à des signatures métaboliques sur feuilles et graines en cours de culture afin d'identifier des profils indicateurs de thermotolérance acquise i.e. médiée par des schémas thermo-sensibilisants. Les analyses reposeront sur des données acquises en conditions contrôlées et au champ.

Hypothèses de travail

Hyp 1 : La comparaison de plusieurs modalités de pré-stress conduisant au même cumul de temps thermiques avant le stress intense (SI) doit permettre d'analyser les effets de la mémoire et non d'un décalage phénologique évitant ou faisant coïncider un stade sensible de la plante avec le SI.

Hyp 2 : Les modifications des voies métaboliques sont différentes (1) selon que l'effet mémoire soit bénéfique, négatif ou absent et/ou (2) en fonction des régulations épigénétiques, de type modifications post transcriptionnelles d'histones sont impliquées dans la réponse aux stress répétés, en contrôlant directement des gènes impliqués dans la mémoire du stress.

Hyp 3 : Les variations des profils de réflectance acquis par NIRS sont utilisables pour détecter précocement et de manière fiable des signatures métaboliques spécifiques à des séquences de stress.

Matériel nécessaire (disponible et/ou à produire), et méthodes envisagées

Culture en conditions contrôlées (année 1) : Une culture de colza (cv. Aviso, utilisé dans de précédents projets) sera réalisée en serre (2023/2024) pour générer le matériel nécessaire aux mesures sur plante et les analyses métabolomiques, protéomiques et transcriptomiques. Cette culture inclura différentes 5 modalités de stress dans l'objectif de tester deux schémas sensibilisants pour lesquels la phase de pré-stress sera différente mais représentera le même cumul de temps thermiques avant le stress intense (SR1+SI, SR2+SI, Figure 1). Afin de tester leurs effets propres, les modalités contrôles respectifs (SR1, SR2) seront également testés. Les plantes (n=4) seront prélevées (i) à la fin de la séquence de pré stress, (ii) à la fin du stress intense (SI) pour des analyses métabolomiques et de protéomique ciblée et (iii) à maturité physiologique pour mesurer l'ensemble des critères de performances finales.

Cultures au champ (année 2) : Ces essais seront conduits en partenariat avec Terres Inovia (contact C. Legall) dans plusieurs régions (Sud-Ouest, Grand Est, Nord-Ouest) et en conditions d'irrigation (pour limiter le stress hydrique). Il s'agira de récolter régulièrement pendant la phase reproductrice du matériel végétal (feuilles et graines) pour des analyses métabolomiques et par NIRS. Les données climatiques seront collectées régulièrement pour cibler les analyses sur certaines dates de récolte (selon l'occurrence des événements de stress).

Mesures non destructrices en cours de cultures et analyses du rendement et de la qualité grainière

Pour la culture en conditions contrôlées : il sera réalisé des mesures non destructrices d'échanges gazeux, d'activité photosynthétique (analyseur CIRAS) et des mesures de spectrométrie NIR (NIRS) sur feuilles et siliques en début et fin (i) du pré stress et (ii) du stress intense. **Pour les cultures en serre et au champ :** des mesures avec un analyseur NIRS portatif seront réalisées avec une fréquence régulière à partir de la floraison. De plus, une récolte sera réalisée à maturité physiologique des graines pour quantifier les composantes du rendement et des critères de qualité nutritionnelle grainière i.e. teneurs et profils d'acides gras, teneurs en azote et en protéines (prestations PLATIN, LEB-Aquitaine Transfert et expertise interne).

Analyses métaboliques, de protéomique ciblée et approches chimiométriques :

Il s'agira de caractériser (i) le métabolome/lipidome (Plateforme haut débit de BFP, par GC-MS) /protéome (Plateforme Proteogen) / transcriptome (AGAP). Ces analyses permettront par une approche ciblée de quantifier les principaux composants de la biomasse (sucres solubles, acides organiques, amidon, protéines totales, acides gras, pigments), les profils rédox et par une approche non ciblée (globale) des profils métabolomiques et protéomiques plus larges ; (ii) des modifications

d'histones particulières par analyses protéomiques ciblées (Plateforme Proteogen, Univ. Caen Normandie) ; la mise au point des méthodes de ciblage de modifications d'histones a déjà été réalisée dans des précédents projets avec la plateforme (non publié) (iii) les gènes sur-exprimés et sous-exprimés au cours des séquences de stress (catégories de gènes mémoire, Jacques et al. 2021). Ces analyses seront réalisées sur les feuilles et graines issues (i) des plantes produites en serre en début et fin de pré-stress, en début et fin de stress intense et à maturité physiologique des graines et (ii) des plantes au champ à des dates de prélèvement judicieusement retenues parmi tous les prélèvements réalisés a posteriori de façon à ne retenir que les dates de prélèvement positionnées au moment d'un stress thermique observé. Les signatures métaboliques issues des prélèvements en serre ou au champ seront confrontées aux profils de réflectance obtenus par NIRS via des approches chimiométriques testant différentes modalités de transformation des données et de modèles de régression (Elastic Net Regression, Support Vector Regression et Partial Least Square Regression).

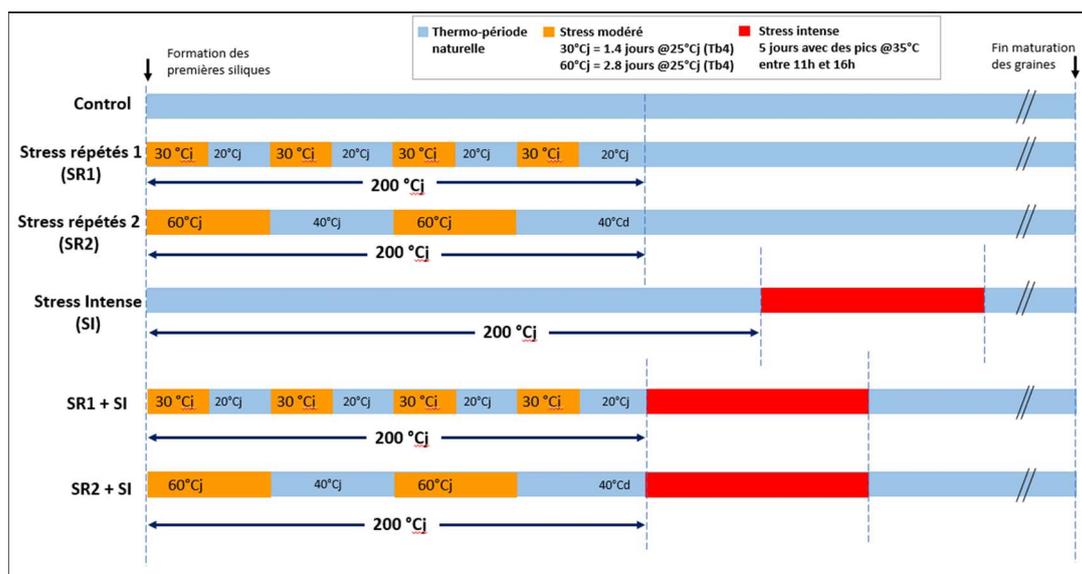


Figure: Schémas des différentes modalités de stress (à affiner). Les modalités SR1 et SR2 sont constituées de séquences d'événements stressants différents mais dont le cumul de temps thermiques est identique (200°Cd). La modalité de stress intense (SI) est constituée d'une période cumulant 200°C dans des conditions de thermo-période similaires au contrôle, suivie de 5 jours avec des pics thermiques à 35°C pendant 5 heures. Les deux dernières modalités combinent les séquences de pré stress et la période de stress intense (déclenchée à partir de 200°Cj).

Programme de recherches

L'Axe 1 est dédié à la mise en place des cultures (serre en année 1 et champ en année 2), des modalités thermiques (serre) dans les tâches 1 et 2 (serre et champ respectivement). Les essais au champ feront partie des réseaux d'essai mis à disposition par Terres Inovia. Il s'agira de réaliser des caractérisations dynamiques non destructrices (échanges gazeux, activité photosynthétique, réflectance NIRS) et des analyses de qualité grainière à la récolte finale en serre et au champ (tâche 3). L'objectif de cet axe est de caractériser les effets de différents schémas de stress thermiques répétés sur la qualité grainière.

L'Axe 2 est dédié à la caractérisation de signatures métaboliques (tâche 1) et de modifications d'histones impliquées dans la mémoire du stress thermique par protéomique ciblée (uniquement pour la culture en serre, tâche 2). Pour la culture en serre, les analyses aux temps intermédiaires (début et fin de pré stress, début et fin de SI) permettront (i) de voir si les différentes modalités de pré-stress ont impacté le développement et la maturation de la graine et ont permis d'atténuer les effets négatifs du SI, (ii) d'identifier les métabolites les plus variables entre modalités sans pré-stress et entre les deux modalités thermo-sensibilisantes (RS1 et RS2), (iii) de suivre les niveaux de ces métabolites pour déterminer leur rôle dans la mémoire du stress ou son effacement et (iv) d'identifier des marques histones connues pour leurs implications dans la mémoire du stress thermique (i.e. H3K4me3 et H3K27me3, Lämke et Baurle, 2017, Haider et al. 2021) et pour lesquelles nous disposons déjà d'hypothèses suite à de précédents résultats en cours d'analyse. Pour les cultures au champ, les analyses de signatures métaboliques se prolongeront après les derniers prélèvements des cultures au

champ (choix a posteriori des dates de prélèvement les plus pertinentes compte tenu des données thermiques observées au cours du stade reproducteur).

Les objectifs de cet axe sont d'identifier (i) des signatures métaboliques particulières qui puissent catégoriser la réponse aux stress thermiques récurrents i.e. pas d'effet mémoire, effet mémoire positif (atténuation de l'effet du SI suite au pré-stress), effet mémoire négatif (amplification de l'effet du SI suite au pré-stress) et (ii) des régulations épigénétiques expliquant les modifications de signatures.

L'Axe 3 est dédié à l'analyse des corrélations entre modifications des profils de réflectance et des signatures métaboliques. Cet axe reposera sur les données acquises en conditions contrôlées et au champ des axes 1 et 2. Il s'agira de développer des modèles prédictifs de signatures métaboliques particulières à partir de modifications de spectres de réflectance (Burnett et al. 2021) dans la perspective de pouvoir utiliser des mesures de réflectance par NIRS comme proxy de signatures métaboliques associées aux catégories de réponse aux stress thermiques (axe 2). L'objectif de ces corrélations est de pouvoir indiquer par des mesures non invasives si les plantes sont acclimatées (priming) ou non (mémoire négative ou absence de mémoire). Dans ce travail, les données acquises au champ serviront à la validation des modèles prédictifs issus des données acquises en conditions contrôlées.

Compétences et formation requise

Le ou la doctorante doit être titulaire d'un diplôme de Master de Recherche 2 ou d'un diplôme d'ingénieur. Il devra posséder des connaissances en écophysiologie végétale, avoir des notions solides de biologie moléculaire et de biochimie. Un esprit d'ouverture et une grande curiosité seront essentiels pour mener à bien ce projet pluridisciplinaire avec les différentes équipes impliquées dans le projet environnant la thèse. Le ou la doctorante devra également s'impliquer dans des analyses de terrain qui solliciteront des qualités de rigueur et d'observation. Une bonne maîtrise du logiciel R est également souhaitée.

Candidature et modalités de recrutement

Le/la candidat(e) sera inscrit à l'EDn BISE pour les 3 ans de la thèse. Le financement du contrat doctoral est acquis (INRAE et ANR).

Début de la thèse souhaitée : octobre 2023 pour une durée de 3 ans

Unité de rattachement : UMR EVA Université Caen Normandie

Directeur et encadrants de thèse : Sophie Brunel-Muguet, Jean-Christophe Avice, Benoît Bernay.

Candidature à adresser (lettre de motivation + CV) par mail

sophie.brunel-muguet@inrae.fr

jean-christophe.avice@unicaen.fr

benoit.bernay@unicaen.fr