

Sujet de thèse

## Modélisation et contrôle du priming de l'immunité végétale par stimulation sonore

<https://mia.toulouse.inra.fr/Emplois>

Toulouse, mai 2019

### Résumé

Ce projet de thèse vise à mieux comprendre et contrôler les phénomènes de *priming* des plantes pour la résistance aux stress biotiques. La recherche proposée consistera à explorer, modéliser et optimiser l'effet de stimulations par ondes acoustiques sur la résistance de la plante modèle *Arabidopsis thaliana* au champignon *Sclerotinia sclerotiorum*. Des expériences de stimulation par ondes acoustiques (périodes, fréquences, intensités, etc.) seront conduites et des données transcriptomiques seront générées en différents instants au cours du priming, dont l'effet sera quantifié par des mesures du niveau de résistance de la plante. Un modèle mathématique de priming sera développé, permettant de passer d'une séquence de stimuli à un niveau de résistance à l'infection, via la prédiction intermédiaire de l'expression de gènes clés. La modélisation s'inscrira principalement dans le cadre des modèles graphiques dynamiques. La dernière partie de la thèse consistera à tester les prédictions de ce modèle par un retour à la biologie et à l'utiliser pour construire, par simulation informatique, des séquences sonores qui optimisent des critères liés par exemple à l'efficacité de la résistance de la plante ou encore à l'expression de certains gènes.

### Enjeux sociétaux et scientifiques

La sécurité alimentaire et la protection de l'environnement imposent la conservation de niveaux de production agricole élevés tout en réduisant le niveau d'intrants. Pour des champignons pathogènes comme *Sclerotinia sclerotiorum*, ravageur majeur du colza et du tournesol, les sources génétiques de résistance sont très limitées et les agriculteurs ont généralement recours à l'utilisation de fongicides pour contrôler la maladie, avec un impact économique, environnemental et de santé publique sérieux. Les plantes présentent toutefois une résistance quantitative (QDR) à sclerotinia, qui implique des gènes de fonctions variées [1,2]. Cette forme d'immunité végétale, fréquente dans la nature, peut être activée par des stimulations biotiques ou abiotiques répétées. Les répétitions de stimulations permettent une réponse immunitaire plus rapide de la plante à un grand spectre de pathogène. Les plantes ainsi « primées » présentent une diminution des symptômes d'infections à sclerotinia comparable à l'effet de gènes majeurs de QDR. Cependant, les bases moléculaires associées à ce gain de résistance demeurent peu connues, et une meilleure compréhension du phénomène de *priming* de la résistance des plantes crée par ces stimulations répétées est nécessaire pour proposer des méthodes de protection des cultures innovantes permettant de lutter contre les épidémies de sclerotinia.

La QDR des plantes aux champignons peut en particulier être primée par des stimulations mécaniques effectuées sur la plante [3]. Des travaux récents conduits sur *Arabidopsis thaliana* ont montré que les stimulations mécaniques exercées par les ondes acoustiques sont perçues par la plante et activent la réponse immunitaire [4,5], et que la répétition temporelle des stimulations est nécessaire pour obtenir un gain de résistance significatif et important. Les travaux réalisés également sur les arbres montrent que l'effet des sollicitations est fortement conditionné par la dynamique avec laquelle sont appliqués les signaux mécaniques [6]. Une variation du nombre de sollicitation peut mener à des effets antagonistes comme l'hypersensibilisation ou l'acclimatation des plantes aux stimulations mécaniques. Ces effets s'accompagnent d'une modification massive de transcriptomes,

mais les bases moléculaires du priming restent largement méconnues [8]. Le développement de modèle de réseau de gènes a toutefois démontré son efficacité pour mieux comprendre les mécanismes complexes du priming [7].

Modéliser les dynamiques d'expression des gènes et de réponses comportementales à des changements de contextes environnementaux est un enjeu scientifique fort en biologie végétale. Les modèles mathématiques actuels sont souvent de type modèles linéaires [9], où le temps est une variable explicative supplémentaire. Ces modèles commencent à être envisagés pour enrichir les modèles de culture de l'écophysiologie qui intègrent des informations génétiques de type QTL (*Quantitative Trait Locus*) pour croiser dynamiquement les dimensions gènes, environnement et pratiques agricoles [10]. Pour la question de la modélisation de la réponse immunitaire de la plante, peu de travaux existent à ce niveau de biologie intégrative [7].

Le priming de la plante doit être associé au phénomène plus général de mémorisation dont de nombreux exemples ont pu être mis en évidence, en particulier concernant la mémoire de stress abiotiques [11]. Ces processus sont principalement abordés soit du point de vue biochimique et moléculaire, dans un cadre génétique ou épigénétique [12], soit dans une perspective plus physiologique et phénotypique [13]. Plus récemment, la biologie végétale s'est enrichie des concepts adaptés de l'éthologie pour explorer et caractériser les capacités de mémorisation et d'apprentissage chez les plantes [14,15].

### **Objectif de la thèse**

Le projet de thèse que nous proposons vise donc à mieux comprendre et contrôler les phénomènes de priming des plantes pour la résistance aux stress biotiques. Il repose sur une modélisation intégrative originale des phénomènes dynamiques de mémoire chez la plante prenant en compte l'expression et la régulation génétique. Plus spécifiquement, cette thèse a pour ambition de caractériser, modéliser et optimiser l'effet de différents priming répétés de type stimulation sonore sur la résistance quantitative d'*A. thaliana* à *S. sclerotiorum*, via la prise en compte de mesures dynamiques d'expression de gènes. Peu de travaux de ce type existent dans le domaine de la biologie végétale, et ce travail pourra proposer des premiers éléments méthodologiques d'une approche computationnelle plus globale pour l'étude des phénomènes de mémoire, d'apprentissage et d'anticipation chez les plantes [16].

### **Programme de recherche**

La recherche proposée consistera à explorer, modéliser et optimiser l'effet du priming mécanique sur la QDR de la plante modèle *Arabidopsis thaliana* à *Sclerotinia sclerotiorum*. En plus des données initialement disponibles, des expériences seront à conduire pour mieux cerner les conditions de stimulation par ondes acoustiques (périodes, fréquences, intensités, etc.) menant à des variations importantes du niveau de résistance de la plante (étude phénotypique). Une fois les conditions de priming intéressantes sélectionnées, des données transcriptomiques seront générées en différents instants au cours du priming pour compléter les données nécessaires à la modélisation.

Le modèle envisagé vise à passer d'une séquence de stimuli (instants de stimulation, durées, modalités) à un niveau de résistance à l'infection, via la prédiction intermédiaire de l'expression de gènes clés au cours du priming. La modélisation développée au cours de la thèse s'inscrira principalement dans le cadre des modèles graphiques dynamiques. Sur la base des connaissances disponibles dans la communauté concernant *A. thaliana* et des données expérimentales disponibles en début de thèse et générées au cours de la thèse, des modèles de la dynamique des réseaux génétiques sous-jacents aux phénomènes de priming de la QDR seront construits.

Une modélisation hybride discret/continu avec représentation explicite du temps sera recherchée, par des approches de type réseaux bayésiens dynamiques ou à temps continu [17,18]. Les extensions

nécessaires (représentation, inférence) aux cadres de modélisation retenus seront développées au cours de la thèse. Ces modèles intermédiaires seront intégrés dans un modèle dynamique global qui reproduira l'effet des séquences de stimuli sur la dynamique d'état des réseaux et sur le niveau de résistance des plantes. Une implémentation d'un modèle de simulation sera développée [19].

La dernière partie de la thèse consistera à inverser le modèle de priming élaboré et à en tester les prédictions par un retour à la biologie. Des séquences originales de priming seront ainsi construites, sur la base de l'optimisation par simulation de critères liés par exemple à l'efficacité de la QDR ou encore à l'expression de certains gènes. Une représentation du problème d'optimisation sous la forme d'un problème de décision séquentielle dans l'incertain sera recherchée, pouvant permettre le développement d'un algorithme de type apprentissage par renforcement à base de simulation autorisant l'exploitation en ligne de données transcriptomiques.

A l'issue de la thèse le doctorant aura renforcé ses compétences en modélisation et apprentissage de systèmes dynamiques complexes et multi-échelles, en optimisation à base de simulation, et en bioinformatique et biologie intégrative dans le domaine de l'immunité des plantes. Il contribuera à ces domaines en publiant au cours de la thèse des articles dans les principales conférences et revues.

### **Accueil et encadrement de la thèse**

La thèse, cofinancée par l'Inra et la Région Occitanie, sera encadrée par Frédéric Garcia (MIAT-INRA) et Adelin Barbacci (LIPM-INRA). L'étudiant(e) sera accueilli(e) dans l'Unité INRA-MIAT du centre Inra Occitanie Toulouse, dont les équipes MAD et SaAB sont spécialisées dans l'apprentissage, la modélisation et l'optimisation de systèmes biologiques et agroécologiques complexes. Les parties expérimentales de la thèse seront conduites au sein de l'équipe QIP du LIPM, qui mettra à disposition du projet de thèse des protocoles et dispositifs robustes et simples pour la culture de plantes et de champignons, l'inoculation rapide, la stimulation de plantes par ondes acoustiques, le phénotypage de maladie automatisé et haut débit.

### **Profil recherché et candidature**

Le/la candidat(e) doit être titulaire d'un diplôme de Master 2 ou d'école d'ingénieur, avec des compétences solides en modélisation mathématique et informatique, ainsi qu'un goût pour l'expérimentation et l'implémentation des méthodes développées, en particulier dans le domaine de la biologie.

Les candidat(e)s sont invité(e)s à envoyer à [frederick.garcia@inra.fr](mailto:frederick.garcia@inra.fr) et [adelin.barbacci@inra.fr](mailto:adelin.barbacci@inra.fr) une lettre de motivation, un CV et leurs relevés de notes de M1 et M2.

### **Bibliographie**

- 1 Roux *et al.* Mol Resistance to phytopathogens e tutti quanti: placing plant quantitative disease resistance on the map Plant Pathol. 2014 Jun;15(5):427-32
- 2 Mbengue *et al.* Emerging Trends in Molecular Interactions between Plants and the Broad Host Range Fungal Pathogens Botrytis cinerea and Sclerotinia sclerotiorum Front Plant Sci. 2016 Mar 31;7:422
- 3 Benikhlef L, L'Haridon F, Abou-Mansour E, Serrano M, Binda M, Costa A, Lehmann S, Métraux J-P. 2013. Perception of soft mechanical stress in Arabidopsis leaves activates disease resistance. BMC plant biology 13, 133
- 4 Choi B, Ghosh R, Gururani MA, et al. 2017. Positive regulatory role of sound vibration treatment in Arabidopsis thaliana against Botrytis cinerea infection. Scientific Reports 7, 2527
- 5 Garcia, F., Léger, O., Vincent, R., Duclos, A. Jimenez, N.4 Badel, E. Leblanc-Fournier, N. Raffaele, S and Barbacci, A. Thigmoimmunity: mechanical signals prime the quantitative disease resistance of plant. Proceedings of the 9th int. plant biomechanics conference, Montreal, August 9-14, 2018.
- 6 Martin, L., Leblanc-Fournier, N., Julien, J.-L., Mouliat, B., Coutand, C., 2010. Acclimation kinetics of physiological and molecular responses of plants to multiple mechanical loadings. Journal of Experimental

Botany 61, 2403–2412

- 7 Pomiès, L., Decourteix, M., Franchel, J., Moulia, B., Leblanc-Fournier, N., 2017. Poplar stem transcriptome is massively remodelled in response to single or repeated mechanical stimuli. *BMC Genomics* 18
- 8 Martinez-Medina A, Flors V, Heil M, Mauch-Mani B, Pieterse CM., Pozo MJ, Ton J, van Dam NM, Conrath U. 2016. Recognizing Plant Defense Priming. *Trends in Plant Science* 21, 818–822
- 9 Iwayama, K., Aisaka, Y., Kutsuna, N. and Nagano, A. J. FIT: statistical modeling tool for transcriptome dynamics under fluctuating field conditions. *Bioinformatics*. 2017 Jun 1; 33(11): 1672–1680
- 10 Yin X., Struik P.C., Gu J., Wang H. (2016) Modelling QTL-Trait-Crop Relationships: Past Experiences and Future Prospects. In: *Crop Systems Biology*. Springer, Cham
- 11 Mauch-Mani, B., Baccelli, I., Luna, E. and Flors, V., 2017. Defense Priming: An Adaptive Part of Induced Resistance. *Annual Review of Plant Biology* 68(1)
- 12 Crisp, P.A., Ganguly, D., Eichten, S.R., Borevitz, J.O., Pogson, B.J., 2016. Reconsidering plant memory: Intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. *Science Advances* 2, e1501340–e1501340
- 13 Fleta-Soriano, E., Munné-Bosch, S., 2016. Stress Memory and the Inevitable Effects of Drought: A Physiological Perspective. *Frontiers in Plant Science* 7
- 14 Tafforeau, M., Verdus, M.C., Norris, V., Ripoll, C., Thellier, M., 2006. Memory processes in the response of plants to environmental signals. *Plant signaling & behavior* 1, 9–14.
- 15 Gagliano, M., Renton, M., Depczynski, M., Mancuso, S., 2014. Experience teaches plants to learn faster and forget slower in environments where it matters. *Oecologia* 175, 63–72. <https://doi.org/10.1007/s00442-013-2873-7>
- 16 Calvo, P., Friston, K., 2017. Predicting green: really radical (plant) predictive processing. *Journal of The Royal Society Interface* 14, 20170096
- 17 Enzo Acerbi, Teresa Zelante, Vipin Narang and Fabio Stella. Gene network inference using continuous time Bayesian networks: a comparative study and application to Th17 cell differentiation. *BMC Bioinformatics* 201415:387
- 18 Simone Villa and Fabio Stella, Learning Continuous Time Bayesian Networks in Non-stationary Domains. *Proceedings of the Twenty-Seventh International Joint Conference on Artificial Intelligence (IJCAI-18)*.
- 19 Quesnel, G., Duboz, R. and É. Ramat, The Virtual Laboratory Environment - An Operational Framework for Multi- Modelling, Simulation and Analysis of Complex Systems, *Simulation Modelling Practice and Theory*, (17), 641-653, April 2009.