

DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE ET FONCTIONNELLE DU NLROME/RESISTOME CHEZ LE MELON

Thèse de Javier **BELINCHON-MORENO**¹

Analysée par Christophe **ROBAGLIA**²

Directrice de thèse : Nathalie **BOISSOT**, Chargée de Recherche, INRAE, UR GAFL Domaine Saint-Maurice, 67 allée des chênes, 84143 MONTFAVET cedex

Co-directrice de thèse : Patricia **FAIVRE-RAMPANT**, Chargée de Recherche, INRAE EPGV CEA - Institut de biologie François Jacob site d'Evry - 2 rue Gaston Crémieux 91057 - EVRY cedex

1. Objectifs et contexte du projet de recherche

La thèse de Javier Belinchon-Moreno est consacrée à l'exploration du pan-génome structural des récepteurs de pathogénicité de type NLR chez 143 génotypes de *Cucumis melo* (melon). Ce travail de cartographie est complété par des analyses fonctionnelles de type GWAS (Genome-Wide Association Studies), visant à relier certains de ces récepteurs à des caractères de résistance spécifiques, en particulier vis-à-vis des pucerons.

2. Analyse de l'introduction bibliographique

L'introduction offre un état de l'art particulièrement complet (plus de 100 pages) sur les récepteurs NLR des plantes et leur fonctionnement :

Les récepteurs NLR sont classiquement présentés comme la seconde ligne de défense immunitaire des végétaux face aux pathogènes les plus évolués, ceux-ci ayant réussi à contourner la première ligne constituée par les récepteurs extracellulaires de type PRR (Pattern Recognition Receptors). Néanmoins, l'auteur aborde et explique remarquablement bien les relations étroites et complexes qui unissent ces deux mécanismes, nuanciant ainsi une vision parfois trop simplifiée de l'immunité végétale.

Si les autres mécanismes de défense des plantes sont peu ou pas abordés, cela reste parfaitement justifiable au vu de l'ampleur du domaine.

Contrairement à ce qu'avance l'auteur, on peut souligner que les plantes possèdent bien une forme de système immunitaire adaptatif, basé sur l'interférence ARN (ARNi).

¹ Thèse de doctorat préparée au sein de l'École doctorale N° 536 Sciences et Agrosciences de l'université d'Avignon, Spécialité : Biologie. Elle a été réalisée dans les Unités de Recherche INRAE Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes (UR1052) et Etude du Polymorphisme des Génomes Végétaux (US1279), présentée et soutenue le 17/12/2025.

² Membre correspondant de l'Académie d'agriculture de France, Section 6 « Sciences de la vie »

La dimension évolutive est principalement éclairée par des comparaisons avec le fonctionnement de récepteurs partiellement homologues chez les animaux.

Cette riche introduction intègre également plusieurs sections méthodologiques et contextuelles très pédagogiques :

- Une présentation comparative des technologies de séquençage à longues lectures (PacBio et ONT) et de leur potentiel pour l'analyse structurale à l'échelle recherchée ;
- Une discussion approfondie des méthodes d'analyse dédiées aux pan-génomiques ;
- Une description des approches mathématiques permettant de lier des traits phénotypiques particuliers au pan-génome *via* des études d'association (GWAS) ;
- Un état des lieux sur le génome des Cucurbitacées. L'auteur rappelle que ce groupe de plantes possède relativement moins de gènes NLR que d'autres familles, ce qui soulève une question évolutive passionnante. Le cas particulier du melon, son répertoire de gènes de résistance (gènes R) identifiés, ainsi que les fonctions connues de ses NLR y sont détaillés.

3. Résultats expérimentaux et innovations méthodologiques

Le cœur du travail expérimental a consisté à acquérir et analyser les séquences d'ADN des clusters de gènes NLR chez les 143 génotypes de melon.

L'originalité majeure de la thèse réside dans le développement et l'application de la méthode NAS (Nanopore Adaptive Sampling). Cette technologie permet, à partir d'une bibliothèque d'ADN classique, de détecter en temps réel, lors du séquençage, si le brin qui traverse le pore appartient à une région d'intérêt (ici, les gènes NLR). Si c'est le cas, le séquençage se poursuit ; sinon, le brin est rejeté. Cette approche élégante évite les étapes physiques d'enrichissement par capture, souvent sources de biais expérimentaux importants. La comparaison avec le séquençage complet du génome effectué sur quelques génotypes témoins valide la méthode, montrant un facteur d'enrichissement en séquences NLR compris entre 5 et 70 fois.

Les résultats (décrits dans un projet d'article déposé sur bioRxiv) illustrent de manière frappante le dynamisme et la fluidité évolutive des clusters de gènes NLR. Il est remarquable que, malgré cette analyse exhaustive sur 143 génotypes, la modélisation montre que la diversité des gènes et clusters NLR est loin d'être entièrement décrite. Cela confirme que les régions génomiques impliquées dans l'interaction avec le vivant ou l'environnement immédiat peuvent évoluer très rapidement.

Dans un second temps, ces données de séquençage ont été exploitées en GWAS afin d'établir des associations physiques avec des loci connus pour être impliqués dans la résistance à diverses maladies (bioRxiv, 2026). Pour cela, le candidat a capitalisé sur les données biologiques et génétiques accumulées depuis de nombreuses années par l'équipe « Melon » de l'Unité GAFL. Ce travail a notamment permis de confirmer le rôle prépondérant du locus Vat dans la résistance aux pucerons et aux virus qu'ils transportent. L'étude détaille également les profils de recombinaison au sein de ce locus où sont colocalisés plusieurs gènes NLR, en s'appuyant sur le séquençage NAS de 79 lignes recombinantes ciblées sur ce locus.

4. Discussion et conclusions du manuscrit

La conclusion se focalise sur l'impact du travail de thèse pour la compréhension de la résistance génétique à de multiples bioagresseurs (ravageurs et pathogènes) et sur les outils et perspectives offerts pour la sélection de variétés résistantes aux stress biotiques.

Une discussion approfondie concerne l'intégration des variations génétiques structurales de grande ampleur dans les analyses de GWAS qui sont classiquement, et pour des raisons techniques, limitées aux SNP et aux petites variations. Il ne fait aucun doute que les grandes variations structurales jouent un rôle évolutif majeur. L'auteur propose donc des approches basées sur ses résultats de pan-génome qui permettront de mieux intégrer ces variations de grande ampleur dans la recherche des bases génétiques des caractères. La discussion porte aussi sur la façon dont les outils développés peuvent permettre d'identifier des gènes et des QTL à effet pléiotrope impliqués dans des résistances multiples.

Conclusion et appréciation générale

En résumé, cette thèse de génomique et de bio-informatique est de très haut niveau technique. Elle a généré un volume considérable de données de qualité et a permis d'éclairer, de façon majeure, l'architecture et la structure génomique des régions impliquées dans les interactions biotiques chez le melon. Le manuscrit est impressionnant et extrêmement complet (plus de 350 pages). Les rapporteurs de la thèse ont été unanimes pour en saluer la quantité de travail et la qualité globale.

À l'instar de l'un des rapporteurs, on peut regretter un peu que, dans l'introduction, les hypothèses purement biologiques ou scientifiques aient été laissées en retrait derrière les approches techniques. Ceci est toutefois bien rattrapé dans la discussion, où les hypothèses évolutives soulevées par les données de séquençage sont discutées avec pertinence en termes d'interactions hôte-pathogène et d'évolution du génome. Les résultats originaux de cette thèse s'inscrivent pleinement dans le champ d'intérêt de l'Académie d'agriculture de France. Ils ont donné lieu à quatre articles dont J. Belinchon-Moreno est premier auteur (deux publiés et deux manuscrits déposés). La qualité globale, la rigueur méthodologique et la productivité de ce travail de recherche sont remarquables et justifient sa valorisation par la présentation de son analyse sur le Site et dans le Mensuel de l'Académie.