



La génomique et l'amélioration des plantes

Yves Chupeau

Directeur de Recherches - Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA Versailles
Membre correspondant de l'Académie d'agriculture de France

Manuscrit révisé le 1er octobre 2012 - Publié le 28 octobre 2013

Résumé : L'utilisation de la génomique renforce et renouvelle les concepts et les démarches de l'amélioration des plantes. Les séquençages profonds de nombreuses plantes, d'une espèce ou d'espèces voisines, permettent désormais l'accès direct à la variabilité génétique, et les techniques de modifications ciblées du génome autorisent des validations de gènes importants pour les caractères agronomiques ou nutritionnels recherchés.

La conjonction de ces différents dispositifs avec les démarches de l'amélioration des plantes, devrait fournir les moyens de valider de façon ciblée, puis d'utiliser les ensembles de gènes cruciaux pour parvenir à des conditions de production végétale encore plus efficaces et plus saines, pour des produits de qualité.

1- La notion de gène

Les financements des recherches sur le génome humain impulsent puissamment l'innovation technologique dans l'ensemble des outils de la génomique. Ces innovations peuvent ensuite irradier, à moindre coût, la génomique de nombreux organismes, dont les plantes et leurs pathogènes. Ces progrès se répercutent fortement sur les concepts et les techniques de l'amélioration des plantes.

Sur les concepts, car la notion de gène ne cesse d'évoluer avec les progrès des méthodes d'analyse. L'étude des mutations avait initialement fait porter l'attention sur le gène en tant que locus. Comme certaines mutations provoquaient des défauts dans les voies métaboliques, le gène fût responsable de la synthèse d'une enzyme, puis par extension d'une protéine, ou d'un polypeptide. Avec la démonstration que l'ADN en constituait le support concret, les gènes acquièrent un statut de molécule et sont délimités en tant qu'unités de complémentation des mutations. La structure de l'ADN puis le décryptage du code génétique font des gènes des unités de codage qui génèrent des produits fonctionnels (protéines, ARN ...), puis des ORF (open reading frame : phase ouverte de lectu). La compréhension des régulations de l'activité des gènes vient compliquer le schéma du locus délimité (promoteur- séquence codante), car il existe de multiples niveaux de régulation, des séquences de régulation intégrées dans les séquences codantes, et des séquences de régulation assez lointaines de la séquence codante. De plus, l'état de la chromatine, par les interactions des histones avec de nombreux effecteurs constitue un niveau de régulation dont on commence à concevoir l'importance et la complexité.

Enfin, la notion de locus est mise à mal par la découverte de l'épissage différentiel : pour une même séquence d'ADN, les processus d'épissage des introns et de maturation peuvent générer différents ARN messagers. Ce qui conduit à différents produits de la même séquence, par les chevauchements des séquences codantes de différents gènes, et surtout par le trans-épissage qui conduit à des réorganisations de portions d'ARN provenant de séquences très éloignées dans le génome. La notion de locus est aussi malmenée par la révélation des activités de régulation de nombreux ARN non codants et par la découverte de plusieurs sites d'initiation de la transcription pour de nombreux gènes, ou encore l'édition (le remplacement bases) de certains ARN. Aujourd'hui, la notion de gène se complique par la vision beaucoup plus dispersée de l'activité du génome. La définition (compactée) du gène que donne le projet ENCODE pour le génome humain est la suivante : « *Le gène est l'union de séquences génomiques qui codent un ensemble cohérent de produits fonctionnels potentiellement chevauchants* » (Gerstein et al, 2007).

Cette définition très globale insiste sur la fonction, et ouvre donc de larges perspectives, si l'on garde à l'esprit que les fonctions connues aujourd'hui ne concernent que quelques pourcents des génomes.

la vision complète des fonctions doit prendre en compte l'ensemble des modifications post-traductionnelles et leurs régulations, qui font que chez l'homme par exemple un même gène peut générer une dizaine de protéines d'activités différentes. Enfin, la majorité de ces protéines sont associées, parfois de façon fugace, dans des complexes fonctionnels où leur rôle est parfois très éloigné de leur fonction à l'état libre...

Ces projections incitent à l'humilité, car beaucoup de progrès techniques et de validations biologiques seront encore indispensables avant d'avoir une bonne évaluation du nombre de fonctions des génomes...

Produits de l'étude avancée du génome humain, ces considérations sur la notion de gène peuvent sembler bien loin des préoccupations concrètes de l'amélioration des plantes, qui cherche à regrouper dans les génomes des plantes cultivées un maximum de caractéristiques favorables, *par tous les moyens et le plus rapidement possible*.

Cependant, le centrage sur la notion de fonction enrichit également les concepts de l'amélioration génétique.

Le phénotype reste majoritairement déterminé par le génotype : les séquences de l'ADN déterminent les séquences des molécules fonctionnelles. Dans les cas les plus simples, une séquence code une protéine, mais de plus en plus, les séquences qui codent pour des ARN régulateurs sont prises en compte. Plus généralement les fonctions résultent de différents modules qui se combinent de différentes façons. Cette complexité, de combinaisons évoluant avec la différenciation tissulaire et l'environnement, est encore amplifiée par les combinaisons variables des complexes des produits fonctionnels ... Complexité dynamique du fait de l'extraordinaire malléabilité des génomes au cours des générations.

2- Les apports du séquençage en amélioration des plantes

Les outils de la génomique ont récemment considérablement enrichi nos connaissances sur l'évolution des génomes de plantes (Salse, Acad. Agric. France, 2012), ainsi que sur les modalités de l'adaptation des plantes à l'environnement (Loudet, Acad. Agric. France, 2012), et les utilisations directes des différents outils sont déjà nombreuses en amélioration des plantes (Charcosset, Acad. Agric. France, 2012). Ne sont décrits que quelques exemples illustratifs dans ce qui suit.

L'exemple récent de la caractérisation du rôle d'une protéine kinase (PSTOL1) dans l'aptitude des riz tolérants à une déficience en phosphore est emblématique. La caractérisation d'un QTL (quantitative trait locus) pour la tolérance à la déficience dans un riz traditionnel indien n'avait pas permis d'en révéler le mécanisme. Le séquençage de ce locus a révélé l'insertion d'un transposon de 90 kb comprenant un gène de protéine kinase, dont le clonage et le transfert à des riz modernes a permis de démontrer le rôle dans la tolérance au stress (Gumuyao et al., 2012). Il se trouve que cette kinase est effectivement responsable du développement plus important du nombre et de la surface des racines, il s'agit donc d'une découverte importante, non seulement pour la production de riz mais aussi d'autres Poacées, en raison des coûts de plus en plus élevés de l'apport de phosphore dans les pratiques agricoles.

Les connaissances acquises sur les plantes modèles (*Arabidopsis*, *Brachypodium*...) permettent de caractériser plus rapidement des gènes importants dans les espèces cultivées. Ainsi, la connaissance d'un gène d'exclusion du sodium chez *Arabidopsis*, a permis à une équipe australienne d'en caractériser l'homologue chez *Triticum monococcum* (diploïde, génome A) effectivement résistant au sel, de l'introduire par croisement chez le blé dur, et d'en suivre efficacement l'introgession (Munns et al., 2012).

Les séquençages, tout récents, de nombreux génomes de maïs délivrent des informations essentielles sur l'évolution de cette espèce cultivée et procurent des marqueurs moléculaires très précis pour orienter les stratégies d'amélioration. Par exemple le séquençage de 278 lignées de maïs permet de déterminer la fréquence des mutations, ainsi que celle des allèles rares au cours des processus de sélection (Jiao et al., 2012). La comparaison des séquences de lignées avec les plantes d'origine sauvage permet de commencer à se faire une idée des rôles respectifs des étapes de domestication, puis de sélection dans la diversité génétique des lignées récentes. Mais aussi, plus surprenant, que les gains de diversité résultent pour l'essentiel d'introgessions de gènes des plantes sauvages apparentées, probablement à la suite de croisements spontanés (Hufford et al., 2012). De façon concomitante, le séquençage de plus de cent lignées de maïs et de graminées voisines, confirme la variabilité des génomes par l'identification de 55 millions de mutations ponctuelles. Dans les variations d'organisation des génomes dues aux transposons, il reste de larges portions qui apparaissent moins sujettes aux recombinaisons. Enfin, la comparaison des génomes des maïs avec celui d'une graminée sauvage, le *Tripsacum dactyloides*, révèle une similitude insoupçonnée jusqu'alors, en raison du nombre de chromosome de *Tripsacum* trois fois plus grand que celui des maïs (Chia et al., 2012). D'après les auteurs de cette dernière étude, cette similitude ouvre de nouvelles perspectives d'amélioration du maïs, car les *Tripsacum* présentent des adaptations plus larges (résistances au gel et à la sécheresse, caractère pérenne ...).

Les nombreux séquençages en cours délivrent un nombre d'informations de plus en plus faramineux dont l'analyse globale n'est qu'entamée, il faut insister ici sur la nécessité de développer de nouveaux outils informatiques afin d'exploiter cette masse d'informations et de pouvoir les utiliser pratiquement.

L'exemple du séquençage profond d'un génome de riz illustre clairement que les questions qui se posent sont les mêmes que celles que l'on se pose pour le génome humain. La combinaison de différentes techniques de séquençage révèle de nombreux « nouveaux » transcrits (non détectés par les techniques classiques de séquençage), ainsi que de nombreux épissages alternatifs qui concernent 33% des gènes, donc beaucoup plus que ce qui était connu auparavant. Enfin, ce séquençage profond a mis en évidence de très nombreuses fusions de transcrits comportant des séquences de différentes protéines, qui génèrent probablement des protéines capables de fonctions et d'interactions nouvelles (Zhang et al., 2010).

En raison de l'efficacité des dispositifs de séquençages, et de leur coût de plus en plus accessible, il est facile d'anticiper que ce type d'information va se généraliser pour les plantes cultivées, en complément de la caractérisation du paysage des modifications épigénétiques et de l'inventaire des petits ARN (Wang et al., 2009) .

Cette généralisation, complétée des vérifications biologiques (Yan et al., 2012), devrait fournir une vaste panoplie de marqueurs de plus en plus informatifs, et renforcer l'efficacité des démarches de la sélection génomique (Cronn et al, 2012; Tester et Langridge, 2010). Ces marqueurs seront identifiés et cartographiés d'autant plus efficacement que les techniques dérivées du séquençage permettent aujourd'hui d'en caractériser de l'ordre de 200 000 assez rapidement et de façon économique (Elshire et al., 2011).

La connaissance des régulations globales de certains microARN a déjà des applications, en particulier pour empêcher (ou retarder) la floraison des plantes dont on cherche à obtenir davantage de biomasse (Fu et al., 2012).

Les informations fonctionnelles par séquençage profond, donc l'analyse complète du transcriptome (description de l'ensemble des ARN transcrits) se révèlent indispensables pour rendre compte du phénotype. Par exemple, le séquençage des génomes du chanvre et du cannabis ne montrent pas de différences notables, alors que le transcriptome indique que les enzymes essentiels de la voie de biosynthèse des cannabinoïdes sont sous exprimés chez le chanvre (van Bakel et al., 2011).

3- L'utilisation du génie génétique en amélioration des plantes

Paradoxalement, le recours au génie génétique en amélioration des plantes reste assez limité aujourd'hui, en partie en raison du battage médiatique essentiellement centré sur des risques biologiques nouveaux. Or, d'une part, en considérant l'étendue et la fréquence des transferts naturels d'ADN (Chupeau, Acad. Agric. France 2012) on peut voir le génie génétique comme une simple extension des processus naturels de transfert de gènes, et d'autre part, connaissant désormais le nombre de remaniements génomiques que provoque le moindre croisement sexué, il semble difficile d'entrevoir des risques biologiques nouveaux...

Toutefois, par précaution et dans les phases initiales d'utilisations pratiques, il semble raisonnable d'évaluer au cas par cas les risques/bénéfices des plantes « transgéniques ». Les pouvoirs publics (et communautaires pour l'Europe) n'ont pas su (voulu ?) mettre en place de réels dispositifs d'évaluation, ce qui empêche pratiquement toute expérimentation en condition agronomique. Ainsi que des attitudes extrêmes et paradoxales jusqu'aux plus hauts niveaux de décision politique et industrielle. Dans un encadrement réglementaire toujours en cours d'élaboration mais assez « hoquetant ».

Certes, les premières utilisations agronomiques aux USA au milieu des années 1990, les transferts de gènes de bactéries conférant des résistances à des herbicides totaux, n'ont pas fourni une bonne entrée en matière. Justement, les défauts de réglementation concernant la gestion de l'utilisation de ces plantes résistantes, mais aussi et surtout des herbicides et leurs usages, ont conduit à une généralisation forcée de l'usage répété de divers herbicides tant dans les systèmes de monoculture de plantes résistantes, que dans de nombreuses cultures des rotations. Ces usages répétés, par défauts de réglementation d'usage, ont favorisé la sélection d'adventices résistantes, ce qui risque fort, finalement, de compliquer outrageusement le travail des agriculteurs.

Ces dévoiements techniques et réglementaires, fournissent le prétexte d'une condamnation renouvelée de tous les OGM, porteurs ou non de risques potentiels. Condamnation renforcée par le désengagement des principaux organismes de recherche publics. Désengagement précoce sans doute fortement nourri du rejet longtemps assez partagé de la biologie moléculaire, considérée comme « réductrice » et donc inutile par les améliorateurs des plantes.

Pourtant, des plantes transgéniques de « première génération » comportent des avancées vers des productions plus biologiques et plus saines, mais très peu vulgarisées jusqu'à présent.

Certaines plantes transgéniques exprimant des toxines de *Bacillus thuringiensis*, largement utilisées (cotonnier, maïs...) permettent un moindre recours aux pesticides tout en limitant leurs impacts sur l'environnement (Sanahuja, 2011). Contrairement à toutes les publications tapageuses sur les risques pour les « organismes non cibles » les cotonniers Bt se révèlent favorables pour les insectes auxiliaires, donc bénéfiques non seulement dans les parcelles de cotonniers transgéniques mais aussi pour les parcelles voisines qui accueillent ces auxiliaires (Lu et al., 2012).

D'autre part, dans les conditions de culture du sud-ouest de la France, les maïs Bt résistants à la pyrale se révèlent beaucoup plus nutritifs et plus sains que les maïs conventionnels, en raison de teneurs en mycotoxines très faibles (Folcher et al., 2010).

Ces informations favorables ne devraient pas empêcher la mise en place de réglementations d'usages, afin de prévenir la sélection d'insectes résistants (Zhang et al., 2012). En effet, comme dans le cas des résistances aux herbicides, la pression de sélection imposée de façon répétée conduit inexorablement à favoriser les rares individus résistants, en raison de mutations naturelles, ce qui permet plus ou moins rapidement l'émergence de populations résistantes.

Les améliorations nutritionnelles ont déjà suscité un grand nombre de travaux, surtout en vue de bio-fortifications pour des vitamines, des éléments minéraux (pour le riz : Bhullar et Gruissem, 2012) des protéines (pour le manioc : Abhary et al, 2011), le proche avenir devrait voir l'utilisation agronomique de ces plantes et donc leur validation nutritionnelle.

La mutagenèse ciblée par recombinaison homologue permet de modifier précisément la voie de biosynthèse du tryptophane chez le riz, et la création de riz dont la teneur des grains en tryptophane est 230 fois supérieure à celle des témoins (Sakai et al., 2011).

Souvent controversés aujourd'hui, ces développements technologiques constituent pourtant une des indispensables démarches pour répondre de façon biologique aux multiples défis auxquels sont confrontés les agricultures. Car il s'agit, pour l'amélioration des plantes, de se donner le plus rapidement possible les moyens de créer des plantes plus nutritives, mais aussi plus économes (eau, éléments minéraux, protection phytosanitaire...). Les connaissances biologiques sur l'assimilation de l'azote (Hirel et Gallais, Acad. Agric. France, 2012 ; Mc Allister et al., 2012) en particulier, et sur les réactions des plantes aux stress abiotiques fournissent déjà des moyens d'action. Pour ces processus extrêmement complexes, il s'agit désormais de comprendre l'imbrication des interactions des régulations du fonctionnement des plantes, grâce aux développements de la génomique (Pelletier, Acad. Agric. France, 2012). Parallèlement, les connaissances biologiques approfondies fournissent également des moyens d'action radicalement nouveaux. Ainsi, de la tolérance à un déficit hydrique passager chez le maïs, obtenue par transfert de gènes de chaperone d'ARN de bactérie. Les chaperones sont des protéines qui favorisent l'acquisition de la conformation efficaces des molécules, et dans ce cas protègent les ARN messagers des repliements induits par le stress hydrique ce qui autorise la poursuite des processus métaboliques, au moins temporairement (Castiglioni et al., 2008).

La recherche de résistances nouvelles pour contrer l'évolution des pathogènes reste sans doute le domaine qui réclame les actions les plus importantes et les plus rapides. La sélection classique, puissamment organisée au niveau international, constitue une approche très efficace, ainsi que le révèle la sélection de blé résistants à une nouvelle race de rouille (*Puccinia graminis* Ug99) apparue en Ouganda en 1998. La propagation rapide de ce pathogène destructeur, avait incité Norman Borlaug à lancer un appel au ralliement en 2005, la « Borlaug global rust initiative ». Dans ce vaste réseau de coopération, les sélectionneurs de blé du monde entier ont réussi à incorporer la résistance à la souche Ug99, dans différentes variétés améliorées qui seront mise en culture dès 2012 (<http://www.scidev.net/fr/news/du-super-bl-qui-r-siste-la-rouille-d-vastatrice.html>).

Lorsque ces nouveaux gènes de résistance seront clonés, il sera possible de les transférer directement et proprement à différentes variétés afin de les inclure dans les programmes d'amélioration, comme c'est le cas pour l'un des gènes de résistance (*Lr34*) longtemps utilisé (Risk et al., 2012).

La création encore plus rapide et ciblée de nouvelles résistances (peut-être plus durables), devrait émerger des travaux en cours sur la génomique des agents pathogènes. Le séquençage du génome de la rouille, justement, permet d'initier l'étude biologique de ce pathogène, parasite obligatoire de deux hôtes successifs, et plus particulièrement l'analyse des gènes codant les effecteurs de virulence (Duplessis et al., 2011).

Dans le cas de la maladie bactérienne du riz, la connaissance biologique des gènes de susceptibilité, et l'utilisation des dispositifs de ciblage, du type TALEN, de mutation du génome vient ainsi d'être utilisée avec succès pour créer un riz résistant au « Bacterial blight » dû à *Xanthomonas oryzae*. Une équipe américaine a en effet réussi à modifier précisément une séquence du promoteur du gène *Os11N3* du riz, gène de susceptibilité à *X. oryzae*, dont le produit est un transporteur de sucre, détourné par le pathogène. Cette mutation induite empêche le détournement du transporteur par le pathogène, ce qui prévient le développement de la maladie, sans altérer le rôle physiologique du transporteur de sucre (Li et al., 2012).

Ces approches ciblées sont en cours de développement pour de nombreux couples hôte-pathogène, c'est le cas pour le Phoma du colza, dont le génome est séquencé, et dont une équipe australienne vient de caractériser un gène de résistance par séquençage profond du génome de colza (Tollenaere et al., 2012). Ces démarches devraient livrer des clés biologiques pour contrer les évolutions parfois galopantes de certains agents pathogènes très destructeurs, comme le mildiou (*Phytophthora infestans*) capable de ravager les parcelles de pomme de terre dont le génome est également séquencé (Haas et al., 2009).

Dans ces démarches, on peut pronostiquer, par exemple, que l'utilisation des MIR VIGS (Chupeau, Acad. Agric. France, 2012), dans un premier temps, permettra la vérification rapide de l'efficacité des gènes de résistance putatifs. Une fois confirmés, ils pourront être intégrés de façon stable par l'un des dispositifs de transfert de gènes.

Le transfert de gène permet d'éviter le recours aux croisements, surtout interspécifiques, une fois les gènes d'intérêt importants identifiés puis clonés dans une espèce. Ce dernier point est spécialement utile pour les plantes à multiplication végétative, comme la pomme de terre ou les arbres fruitiers. Le transfert de gènes de résistance au mildiou clonés chez *Solanum bulbocastanum* a fourni un des premiers exemples (Song et al., 2003). Cette stratégie devrait s'amplifier grâce à l'effort de l'université de Wageningen qui met à disposition une base de données concernant des gènes de résistance dérivés de 5 000 accessions de *Solanum* caractérisées au niveau international (Weshouwers et al., 2011), en parallèle des stratégies de lutte biologique par transfert de gènes dérivés des effecteurs de virulence du *Phytophthora* (Haas et al., 2009). Pour les mêmes raisons, ces stratégies devraient s'appliquer à la création de résistances aux mildious pour les vignes (Gadoury et al., 2012).

Dans ce domaine également, les connaissances biologiques approfondies, devraient ouvrir des possibilités innovantes de recherches de résistances de l'hôte contre les pathogènes et prédateurs. Ainsi, par exemple, des expérimentations projetées à Rothamsted (UK) sur des blés transgéniques qui expriment des gènes artificiels de synthèse de β -farnesene, pour vérifier leur effet répulsif sur les pucerons (<http://www.rothamsted.ac.uk/PressReleases.php?PRID=165>).

Les différents aspects que nous venons de survoler pour les plantes cultivées s'appliquent également aux arbres (Merkle et Nairn, 2005). En particulier, le génie génétique fournit des possibilités innovantes pour la production améliorée de biomasse par des espèces déjà largement exploitées telles que les peupliers et les eucalyptus, dont de nombreuses plantations expérimentales sont en cours d'évaluation. La caractéristique générale de ces arbres transgéniques porte sur la diminution de la quantité de lignine (Girijaskankar, 2011). Comme pour le maïs, la surexpression de la glutamine synthétase chez un peuplier améliore la vitesse de croissance donc la quantité de biomasse produite, mais aussi l'efficacité d'utilisation de l'azote ainsi que la diminution de la quantité de lignine (Coleman et al., 2012).

4- Conclusion

Les différentes techniques de génomique disponibles aujourd'hui, et de plus en plus ciblées, offrent des possibilités accrues d'amélioration. L'utilisation de la mutagenèse et de l'inactivation de gènes expérimentales révèle les gènes qui contrôlent les processus biologiques essentiels, tandis que la génomique des adaptations naturelles peut identifier des allèles utiles. Au risque de rabâcher, il faut insister sur le rôle d'outil scientifique, complémentaire mais essentiel, des différentes techniques du génie génétique. Dans un proche avenir, ce rôle ne peut d'ailleurs que s'amplifier pour les validations biologiques des gènes (fonctions) révélées par les séquençages de plus en plus complets et précis. De sorte que progressivement le transfert de gènes et ses améliorations, et plus généralement les dispositifs de modification héréditaires des génomes, devraient devenir des outils complémentaires importants de l'amélioration des plantes pour de nombreux objectifs.

Bibliographie

- Abhary M, Sirtunga D, Stevens G, Taylor NJ, Fauquet CM. (2011) Transgenic Biofortification of the Starchy Staple Cassava (*Manihot esculenta*) Generates a Novel Sink for Protein. *PLoS ONE* 6, 1, e16256
- Bhullar NK, Grissem W. (2012) Nutritional enhancement of rice for human health: The contribution of biotechnology, *Biotechnol Adv* . doi:10.1016/j.biotechadv.2012.02.001
- Castiglioni P, Warner D, Bensen R , et al. (2008) Bacterial RNA chaperones confer abiotic stress tolerance in plants and improved grain yield in maize under water-limited conditions. *Plant Physiol*, 147, 446-455.
- Charcosset A. (2012) *Acad. Agric. France, Comptes rendus sur les potentiels de la science pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement.*
- Chia JM, Song C, Bradbury PJ, Costich D, de Leon N, Doebley J, Elshire RJ, Gaut B, et al. (2012) Maize HapMap2 identifies extant variation from a genome in flux. *Nature genet.*, doi:10.1038/ng.2313
- Chupeau Y. (2012) Les outils de la génomique renouvellent la biologie. *Acad Agric France, Comptes rendus sur les potentiels de la science pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement.*
- Coleman HD, Canovas FM, Man H, Kirby EG, Mansfield SD (2012) Enhanced expression of glutamine synthetase (GS1a) confers altered fibre and wood chemistry in field grown hybrid poplar (*Populus tremula* X *alba*) (717-1B4). *Plant Biotech. J.*, 1-7 doi: 10.1111/j.1467-7652.2012.00714.x
- Cronn R, Knaus BJ , Liston A , Maughan PJ , Parks M , Syring JV , Udall J.(2012) Targeted enrichment strategies for next-generation plant biology. *Am J Bot.* 99(2): 291-311.
- Duplessis S, et al. (2011) Obligate biotrophy features unraveled by the genomic analysis of rust fungi. *PNAS* 108 (22) www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1019315108
- Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Poland JA, Kawamoto K, et al. (2011) A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) Approach for High diversity species. *PLoS ONE* 6(5): e19379. doi:10.1371/journal.pone.0019379
- Folcher L, Delos M, Marengue E, Jarry M, Weissenberger A, Eychenne N, Regnault-Roger C. (2010) Lower mycotoxin levels in Bt maize grain. *Agron. Sustain. Dev.* 30, 711-719.
- Fu C, Sunkar R, Zhou C, Shen H, Zhang JY, Matts J, Wolf J, Mann DGJ, Stewart CN, Tang Y, Wang ZY. (2012) Overexpression of miR156 in switchgrass (*Panicum virgatum* L.) results in various morphological alterations and leads to improved biomass production. *Plant Biotech J.* doi: 10.1111/j.1467-7652.2011.00677.x
- Gerstein MB et al. (2007) What is a gene, post-ENCODE? History and updated definition. *Genome Res.* 17, 669-681 doi:10.1101/gr.6339607
- Girijashankar V. (2011) Genetic transformation of eucalyptus. *Physiol Mol Biol Plants* 17, 9-23.
- Goudory DM, Cadle-Davidson L, Wilcox LW, Dry IB, Seem RC, Milgroom MG . (2012) Grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*): a fascinating system for the study of the biology, ecology and epidemiology of an obligate biotroph . *Mol Plant pathol.* 13, 1-16.
- Gamuyao R, Chin JH, Pariasca-Tanaka J, Pesaresi P, Catausan S, Dalid C, Slamet-Loedin I, Tecson-Mendoza EM, Wissuwa M, Heuer S. (2012) The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. *Nature* 488, 535-539.
- Haas BJ et al. (2009) Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*. *Nature* 461, 393-398.
- Hirrel B, Gallais A. (2012) Améliorer l'efficacité d'utilisation des engrais azotés chez les plantes cultivées. *Acad Agric France, Comptes rendus sur les potentiels de la science pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement*
- Hufford MB, Xu X, van Heerwaarden J, Pyhäjärvi T, Chia JM, Cartwright RA, Elshire RJ, et al. (2012) Comparative population genomics of maize domestication and improvement. *Nature Genet.*, doi: 10.1038/ng.2309
- Jiao Y, Zhao H, Ren L, Song W, Zeng B, Guo J, Wang B, Liu Z, Chen J, Li W, Zhang M, Xie S, Lai J. (2012) Genome-wide genetic changes during modern breeding of maize. *Nature genet.*, doi:10.1038/ng.2312
- Li T, Liu B, Spalding MH, Weeks DP, Yang B (2012) High-efficiency TALEN-based gene editing produces

- disease-resistant rice (2012) *Nature Biotech.* 30, 390-392.
- Loudet O. (2012) Variabilité naturelle, évolution et adaptation ; les apports du modèle Arabidopsis. *Acad. Agric. France, Comptes rendus sur les potentiels de la science pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement.*
- Lu Y, Wu K, Jiang Y, Guo Y, Desneux N. (2012) Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. *Nature*, doi:10.1038/nature11153
- McAllister CH, Beatty PH, Good AG. (2012) Engineering nitrogen use efficient crop plants: the current status. *Plant Biotech. J.*, doi: 10.1111/j.1467-7652.2012.00700.x
- Merkle SA, Nairn CJ. (2005) Hardwood tree biotechnology. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 41, 602-619.
- Munns R, James RA, Xu Bo, Athman A, Conn SJ, Charlotte Jordans C, Byrt CS, Hare RA, Tyerman SD, Tester M, Plett D, Gilliam M. (2012) Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na transporter gene; *Nature Biotech.* doi:10.1038/nbt.2120
- Pelletier G. (2012) Pistes d'utilisation des connaissances pour l'amélioration des plantes vis-à-vis du déficit hydrique. *Acad Agric France, Comptes rendus sur les potentiels de la science pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement*
- Risk JM, Selter LL, Krattinger SG, Viccars LA, Richardson TM, Buesing G, Herren G, Lagudah ES, Keller B. (2012) Functional variability of the Lr34 durable resistance gene in transgenic wheat. *Plant Biotechnol J.* 1-11 doi: 10.1111/j.1467-7652.2012.00683.x
- Sakai H, Oikawa A, Matsuda F, Onodera H, Saito K, Toki S. (2011) Application of Gene Targeting to Designed Mutation Breeding of High-Tryptophan Rice. *Plant Physiol.* 156, 1269-1277,
- Salse J. (2012) la paléogénomique des plantes pour l'amélioration variétale. *Acad Agric France, Comptes rendus sur les potentiels de la science pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement.*
- Sanahuja G, Banakar RJ, Twyman RM, Capell T, Christou P. (2011) *Bacillus thuringiensis*: a century of research development and commercial applications. *Plant Biotech; J.* 9, 283-300.
- Song J, Bradeen JM, Naess SK, Raasch JA, Wielgus SM, Haberlach GT, Liu J, Kuang H, Austin-Phillips S, Buell CR, Helgeson JP, Jiang J. (2003) Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 9128-9133.
- Tester M, Langridge P. (2010) Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science* 327, 818-822.
- Tollenaere R, Alice Hayward A, Dalton-Morgan J, Campbell E, Lee JRM, Lorenc MT, Manoli S, Stiller J, Raman R, Raman H, Edwards D, Jacqueline Batley J. (2012) Identification and characterization of candidate Rlm4 blackleg resistance genes in Brassica napus using next-generation sequencing. *Plant Biotech. J.*, doi: 10.1111/j.1467-7652.2012.00716.
- van Bakel H, Stout JM, Cote AG, Tallon CM, Sharpe AG, Hughes TRPage JE. (2011) The draft genome and transcriptome of *Cannabis sativa*. *Genome Biology* 12:R102 <http://genomebiology.com/2011/12/10/R102>
- Wang X, Elling AA, Li X, Ning Li N, Peng Z, He G, Sun H, Qi Y, Liu, XS, Deng XW. (2009) Genome-Wide and Organ-Specific Landscapes of Epigenetic Modifications and Their Relationships to mRNA and Small RNA Transcriptomes in Maize. *Plant Cell*, 21, 1053-1069.
- Weeshouvers V et al. (2011) SolRgene: an online database to explore disease resistance genes in tuber-bearing Solanum species. *BMC Plant Biology* 11, 116.
- Yan J, Yiyu Gu Y, Jia X, Kang W, Pan S, Tang, X, Chen X, Tanga G. (2012) Effective Small RNA Destruction by the Expression of a Short Tandem Target Mimic in Arabidopsis. *Plant Cell* www.plantcell.org/cgi/doi/10.1105/tpc.111.094144
- Zhang G, et al. (2010) Deep RNA sequencing at single base-pair resolution reveals high complexity of the rice transcriptome. *Genome Res.* doi:10.1101/gr.100677.109
- Zhang H, Tiana, W, Zhaoa J, Jina L, Yanga J, Liua C, Yanga Y, Wua S, Wub K, Cuic J, Tabashnik BE, and Wua Y. (2012) Diverse genetic basis of field-evolved resistance to Bt cotton in cotton bollworm from China. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1200156109